

УДК 579.674; 664.83

УТОЧНЕНИЕ РЕЖИМОВ СТЕРИЛИЗАЦИИ ГЕТЕРОГЕННЫХ ОВОЩНЫХ ПРОДУКТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЕЛИЧИНЫ PH

М. Т. Левшенко, старший научный сотрудник
Б. Л. Каневский, кандидат технических наук
Г. П. Покудина, старший научный сотрудник
Л. А. Борченкова, старший научный сотрудник
В. И. Сенкевич, старший научный сотрудник

*Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования – филиал
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН
E-mail: lev-milka@yandex.ru*

Ключевые слова: стерилизация консервов, гетерогенный продукт, величина pH, тест-контейнер, тест-культура, спорная суспензия, *Clostridium botulinum*, термоустойчивость бактериальных спор.

*Реферат. Рассматриваются вопросы оптимизации процесса разработки режимов стерилизации овощных гетерогенных продуктов для производства доброкачественных консервов. При разработке режимов стерилизации овощных продуктов учитывают величину термоустойчивости спор *Clostridium botulinum*. Расчет величины термоустойчивости микроорганизмов (D_T) проводили с учетом величины pH продукта. При проведении прогревов гетерогенных консервов компоненты имели различную величину pH. Экспериментально установлено, что для получения предварительных данных по определению D_T в гетерогенных овощных продуктах целесообразно пользоваться капиллярным методом, а для получения более точных параметров термоустойчивости спор тест-микроорганизмов необходимо использовать металлические тест-контейнеры специальной конструкции. Это позволяет более точно рассчитывать параметры режимов стерилизации, что особенно важно при производстве консервов для детского питания.*

REFINEMENT OF STERILIZATION REGIMES OF HETEROGENEOUS VEGETABLE PRODUCTS IN DEPENDENCE FROM VALUE PH

M. T. Levshenko, senior researcher
B. L. Kanevsky, candidate of technical Sciences
G. P. Pokudina, senior researcher
L. A. Borchenkova, senior researcher
V. I. Senkevich, senior researcher

*Federal Agency of Scientific Organizations
All-Russian Scientific Research Institute of Technology canning – branch
Federal State Budget Scientific Institution
«Federal Scientific Center of Food Systems. V. M. Gorbato» RAS*

Key words: canned sterilization, heterogeneous product, pH value, test container, test culture, spore suspension, *Clostridium botulinum*, heat resistance of bacterial spores.

*Abstract. The article deals with the optimization of the process of developing sterilization regimes for vegetable heterogeneous products for the production of benign canned food. When developing sterilization regimes for vegetable products, the value of the thermal stability of *Clostridium botulinum* spores is taken into account. The calculation of the thermal stability of microorganisms (D_T) was carried out taking into account the pH of the product. During the heating of heterogeneous canned food, the components had a different pH*

value. It has been experimentally established that in order to obtain preliminary data on the determination of D_T in heterogeneous vegetable products, it is advisable to use the capillary method, and to obtain more accurate parameters for the thermal stability of the test-microbial spores, it is necessary to use metal test containers of a special design. This will allow more accurate calculation of the parameters of sterilization regimes, which is especially important in the production of canned food for baby food.

Безопасность и качество консервов, наряду с качеством сырья, обеспечиваются надлежащими режимами стерилизации. Параметры режимов термической обработки консервов (температура и продолжительность) устанавливают в первую очередь на основании наиболее термоустойчивых спор микроорганизмов, опасных для здоровья людей и являющихся основными возбудителями порчи данного вида консервов [1].

Овощное сырьё для производства консервов имеет низкую кислотность и соответственно величину pH выше 4,5 [1]. Поэтому при выработке овощных консервов с нерегулируемой величиной pH их стерилизуют при температуре 120 °C в течение времени, обеспечивающего гибель спор *C. botulinum* [2]. Рецепт консервов может предусматривать нормированное добавление в заливку кислот, что снижает величину pH продукта и позволяет уменьшить температуру стерилизации этих консервов до 100 °C.

Известны случаи, когда консервы из моркови были причиной пищевых отравлений ботулинической этиологии [3]. Поэтому в работе изучали термоустойчивость спор *C. botulinum* в консервах «Морковь консервированная», при изготовлении которых может использоваться кислота.

Наше внимание к изучаемому вопросу, касающемуся вариации pH многокомпонентных консервов перед стерилизацией, обосновано утверждением, что при стерилизации многокомпонентных пищевых продуктов величина pH должна быть измерена не только для каждого компонента, но и для областей границ между ними [4].

Согласно технологическим инструкциям производства консервов [5], стерилизация должна начинаться не позднее 30 мин после укупорки изготовленного продукта в таре. Однако если гомогенные и гомогенизированные продукты имеют перед стерилизацией продукта равновесную величину pH, то для гетерогенных продуктов необходимо исследовать фактическую величину pH компонентов, а именно, заливки и основного компонента.

Термоустойчивость микроорганизмов и их спор существенно зависит от условий, в которых протекает процесс нагрева. Среди этих условий кислотность среды занимает одно из первых мест. Обычно в высококислотных средах вегетативные клетки микроорганизмов и их споры при нагреве погибают быстрее, чем в низкокислотных, но прямой зависимости между pH среды, количеством кислоты в продукте и снижением термоустойчивости спор микроорганизмов не наблюдается [6].

Величина pH консервов зависит от рецептуры продукта. Даже при одной и той же рецептуре, предусмотренной технологической инструкцией, могут быть колебания pH продукта в зависимости от ряда факторов, в том числе от различий в химическом составе используемого сырья. Тем не менее при разработке режимов стерилизации в соответствии с действующим руководством [7] учитывается только равновесная величина pH консервируемого продукта.

Из органических кислот, используемых в пищевой промышленности для повышения кислотности пищевой продукции и/или придания ей кислого вкуса, чаще других в рецептуру заливки включают уксусную, молочную или лимонную кислоты. Кроме уровня pH, большое влияние на термоустойчивость спор имеет и природа кислоты, продолжительность ее действия, индивидуальные биологические свойства микроорганизма, а также температура и продолжительность нагрева [8]. Нами было изучено влияние различных концентраций уксусной и лимонной кислот на термоустойчивость спор *C. botulinum* в зависимости от величины pH гетерогенного продукта.

При расчете режимов стерилизации консервов учитываются три основных показателя: параметры термоустойчивости тест-штамма микроорганизма, исходная (предполагаемая или установленная экспериментально) обсемененность продукта культурой тест-штамма (количество спор в заданном объеме продукта) и допустимое после прогрева остаточное количество спор тест-штамма в заданном объеме продукта. В отечественной практике в основном используют способ расчета режима стерилизации в модификации Стамбо [8], включающий сравнительный анализ нормативного уровня требуемой ле-

тальности термической обработки продукта с фактическим действием нагревания на микроорганизмы в процессе стерилизации в производственных условиях.

Режим стерилизации разрабатывается конкретно для каждого вида продукта и для условий, в которых осуществляется стерилизация (тип оборудования для стерилизации, параметры теплоносителя, состав продукта, вид упаковки и т.д.) [9]. При этом необходимо, чтобы режим стерилизации не был излишне «жестким», т.е. продукты не рекомендуются подвергать слишком продолжительным температурным воздействиям из-за снижения их качества.

При расчетах режимов стерилизации пользуются эмпирическими закономерностями между количеством жизнеспособных спор и параметрами нагрева. Экспериментально было установлено, что гибель популяции клеток и спор микроорганизмов в продукте при нагревании происходит не мгновенно, и если изобразить этот процесс (продолжительность нагрева и число оставшихся жизнеспособных спор) в полулогарифмической системе координат, то на определенном участке данная зависимость может носить линейный характер. В этом случае скорость отмирания спор (K_v) определяется уравнением скорости мономолекулярных химических реакций первого порядка [3]:

$$K_v = \frac{2,303}{\tau} (\lg N_i - \lg N_r), \quad (1)$$

где τ – продолжительность нагрева; N_i – начальное число спор микроорганизмов; N_r – число жизнеспособных спор микроорганизмов после нагрева в течение времени τ .

Показатель термоустойчивости микроорганизмов D_T (Decimal reduction time) представляет собой время выдержки в минутах, при котором популяция выживших микроорганизмов сокращается в 10 раз, т.е. 90 % имевшихся микроорганизмов и их спор погибает [9].

Значение показателя термоустойчивости D_T определяют экспериментально. Процедура определения включает следующие этапы: приготовление суспензии спор; прогрев суспензии спор микроорганизмов в исследуемом продукте с определенным показателем pH.

Значение D_T можно представить в виде формулы:

$$D_T = (t_2 - t_1) / [\lg(a) - \lg(b)], \quad (2)$$

где a и b соответствуют количеству микроорганизмов, переживших нагрев в течение соответственно t_1 и t_2 мин.

Значение D_T зависит от температуры прогреваемых спор, и чем она выше, тем меньше значение D_T . Его обычно находят графически из экспоненциальной части кривой выживаемости. Для подсчета D_T учитывают количество выживших клеток тест-культур и строят кривую выживаемости в полулогарифмической системе координат [9].

В качестве объекта исследований изменения pH в гетерогенных продуктах использовали продукт «Морковь гарнирная», приготовленный в соответствии с ТИ [5]. Соотношение компонентов в продукте составляло: 55 % моркови бланшированной нарезанной (кубики с ребром 10 мм), 45 % заливки с 5 % сахара и 0,5 % соли с добавлением различного количества уксусной или лимонной кислот (0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 и 0,5 %).

Более подробно методы исследования описаны в работе [10]. Исследования зависимости термоустойчивости спор *C. botulinum* от pH продукта и вида использованной органической кислоты проводили в капиллярах и тест-контейнерах с использованием музейных культур микроорганизмов лаборатории качества и безопасности пищевой продукции ВНИИТеК – *C. botulinum* типа В (штамм В-364). Этот тип является наиболее частым возбудителем пищевых отравлений ботулинической этиологии от овощных консервов.

Выбор штамма тест-культуры, получение споровой суспензии и определение параметров её термоустойчивости в зависимости от различных факторов проводили в соответствии со справочником по стерилизации консервов [9].

Следующим этапом наших исследований было изучение величины D_T термоустойчивости спор тест-культуры в зависимости от величины pH гетерогенных продуктов.

Термоустойчивость микроорганизмов определяли в тонкостенных стеклянных капиллярах. Существенным моментом, определяющим выбор метода определения термоустойчивости, является

консистенция исследуемого продукта. Для гомогенизированных продуктов исследования проводили капиллярным методом в морковном пюре при pH 4,0 и 5,0. Морковное пюре получали путём измельчения консервов «Морковь консервированная» в асептических пакетах с использованием измельчителя продуктов BAGMIXER 400 P (Франция).

В каждом капилляре содержалось 0,1 см³ суспензии с количеством жизнеспособных спор не менее 1×10⁶. Для каждого соотношения температуры и времени проводили не менее трех параллельных определений. При этом время теплопроникновения в капилляр для достижения температуры прогрева было принято равным 7 с. Начальная концентрация составляла не менее 3×10⁷ спор в 1,0 см³.

Для каждого времени прогрева высевали на твердую питательную среду Standard Methods Agar (Plate Count Agar) HIMEDIA (Индия) по три капилляра и определяли логарифм среднеарифметического числа выживших спор.

Этот способ применим для прогрева спор тест-микроорганизмов в гомогенных и гомогенизированных продуктах. Для прогрева спор в гетерогенных продуктах рекомендуется использовать металлические контейнеры круглой конструкции [11].

Для проведения исследований термоустойчивости спор *C.botulinum* в гетерогенных продуктах были разработаны и изготовлены тест-контейнеры специальной конструкции [10].

В тест-контейнеры помещали (в асептических условиях) свежеприготовленную заливку с кубиками бланшированной моркови с ребром 5 мм общей массой 10 г. Перед прогревом продукта в тест-контейнерах в центр продукта вносили пипеткой споры тест-культуры микроорганизма в количестве 0,5 мл для того, чтобы к началу прогрева их количество составляло не менее 5×10⁸ спор на контейнер, или 5×10⁷ спор на 1,0 г продукта. Контейнеры закрывали предварительно протертыми спиртом крышками и закрепляли вертикально в термостате LOIP-311 (Санкт-Петербург) так, чтобы поверхность каждого контейнера полностью омывалась греющей средой (глицерин). В один из контейнеров через крышку помещали ХК-термопару с показателем тепловой инерции 0,3 с.

Тест-контейнеры с инфицированным продуктом прогревали в термостате, где температура 105 °С в наименее прогреваемой точке контейнера достигалась в течение 90 с и поддерживалась требуемое время. После прогрева тест-контейнеры извлекали из термостата и охлаждали ледяной водой 10 с.

Прогретые зараженные образцы продукта в капиллярах и в тест-контейнерах для непосредственного подсчета выживших спор высевали (с разведением или без разведения) на твердые питательные среды в трубки Вейона [2]. Разведение подбирали согласно предполагаемому числу выживших спор. Посевы спор *C. botulinum* термостатировали 12 суток при температуре 37±1 °С.

Подсчет количества микроорганизмов, выросших на плотных питательных средах, проводили способом прямого подсчета числа колоний по ГОСТ ISO 7218–2015 [12]. При этом рассчитывали число микроорганизмов, присутствующих в пробе, как средневзвешенное значение из двух подсчетов последовательных разведений по формуле

$$N=\sum C/ (V\times 1,1\times d), \quad (3)$$

где N – число микроорганизмов; $\sum C$ – сумма колоний, подсчитанных в двух трубках Вейона, выбранных для подсчета из двух последовательных разведений; V – объем посевного материала, внесенного в каждую трубку Вейона, см³; d – коэффициент разведения, соответствующий первому выбранному разведению (в случае отсутствия разведения $d=1$).

Результат вычисления округляли до двух значащих цифр.

Подсчет количества спор в продукте осуществляли методом разведений в соответствии с ГОСТ ISO 7218–2015 [12].

Определение величины pH проводили непосредственно в продукте потенциометрическим методом с использованием pH-метра HANNA pH 211 (Румыния). Подготовку прибора и измерение величины pH проводили в соответствии с инструкцией [13]. Суммарная погрешность определения pH этим прибором не более ±0,05 в диапазоне от 2 до 9 единиц при температуре измеряемых образцов и окружающей среды от 15 до 60 °С.

Результаты определения pH компонентов консервов до и после стерилизации приведены в табл. 1.

Таблица 1

Величина pH моркови и заливки в продукте «Морковь консервированная»

Стадия переработки моркови	Морковь		Заливка	
	Температура, °C	pH измельченной моркови	Температура, °C	pH
Свежая морковь	22	6,1±0,1	22	2,4±0,1
Бланшированная морковь в банках с маринадом перед стерилизацией	32	5,0±0,1	60	2,6±0,1
Консервы после стерилизации	28	4,4±0,2	54	3,7±0,2
Консервы через 20 ч после стерилизации	20	4,0±0,2	20	4,0±0,2

Из табл. 1 видно, что pH основного компонента продукта – моркови после бланширования перед стерилизацией больше, чем в заливке, на 2,5 единицы. Эти различия далеки от равновесного значения pH, которое достигается через несколько часов после стерилизации.

До заражения консервов определяли показатель термоустойчивости тест-культуры микроорганизма *C. botulinum* типа В-364 в 0,1 М фосфатном буфере с pH 6,98 при 105 °C. Термоустойчивость спор была равна $D_T = 2,34$ мин. Полученная спорная тест-культура обладала требуемой термоустойчивостью для проведения дальнейших прогревов продукта.

В табл. 2 приведены результаты определения параметров термоустойчивости споровых суспензий при 105 °C.

Таблица 2

Влияние pH продукта на величину термоустойчивости спор *C. botulinum* типа В-364 в капиллярах и в тест-контейнерах

Величина pH продукта	Величина термоустойчивости $D_{105^\circ\text{C}}$ для спор <i>C. botulinum</i> , мин			
	в капиллярах		в тест-контейнерах	
	с уксусной кислотой	с лимонной кислотой	с уксусной кислотой	с лимонной кислотой
5,0	1,64	1,85	1,52	1,76
4,0	0,79	0,80	0,73	0,75

Из табл. 2 видно, что уксусная кислота больше снижает величину D_T термоустойчивости ботулинических спор при величине pH продукта 5,0, чем лимонная, а при pH продукта, равном 4,0, влияние уксусной и лимонной кислот на термоустойчивость практически одинаковое.

Полученные результаты прогревов показали, что термоустойчивость спор *C. botulinum* зависит не только от pH продукта, но и от вида использованной органической кислоты. Установлено также, что термоустойчивость спор *C. botulinum* при прогреве в тест-контейнере с гетерогенным продуктом с неравновесной величиной pH ниже, чем при прогреве в аналогичной среде с равновесной величиной pH в капиллярах. Это можно объяснить тем, что в тест-контейнере большинство спор *C. botulinum* находится в заливке, а при прогреве в капилляре споры находятся в гомогенизированном продукте. Поскольку заливка имеет начальное более низкое значение pH, чем гомогенизированный продукт, поэтому и термоустойчивость спор при прогреве в тест-контейнере меньше.

Таким образом, на основании результатов проведенных исследований могут быть сделаны следующие выводы.

1. Величина pH компонентов гетерогенных консервируемых продуктов не имеет равновесного значения перед стерилизацией, поэтому для расчёта параметров режимов стерилизации гетерогенных консервов из овощей следует принимать во внимание реальное значение pH компонентов.

2. При определении параметров термоустойчивости спор тест-микроорганизмов гетерогенных овощных продуктов для получения предварительных результатов можно пользоваться капиллярным методом, а для получения более точных экспериментальных данных необходимо использовать металлические тест-контейнеры специальной конструкции.

3. Термоустойчивость спор *C. botulinum* зависит не только от pH продукта, но и от вида органической кислоты, использованной для подкисления продукта. Уксусная кислота больше снижает тер-

моустойчивость спор *C. botulinum*, чем лимонная, при величине pH=5,0, а при pH=4,0 влияние этих кислот на термоустойчивость одинаковое. Это необходимо учитывать при расчете параметров режимов стерилизации овощных продуктов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Predicting the Quality of Pasteurized Vegetables Using Kinetic Models: A Review.* /M. Aamir, M. Ovissipour, S. S. Sablani, B. Rasco// International Journal of Food Science. – 2013. – Vol. 2013, Article ID 271271. – P. 29.
2. Анализ и оценка качества консервов по микробиологическим показателям. / Н.Н. Мазохина-Поршнякова, Л.П. Найдёнова, С.А. Николаева, Л.И. Розанова. – М.: Пищ. пром-сть, 1977. – 471 с.
3. Мазохина-Поршнякова Н.Н. Подавление возбудителей ботулизма в пищевых продуктах. – М.: Агропромиздат, 1989. – 176 с.
4. *Evaluation and Definition of Potentially Hazardous Foods*// A Report of the Institute of Food Technologists for the Food and Drug Administration of the United States Department of Health and Human Services. – 2001. – Vol. 2. – P. 23.
5. Сборник технологических инструкций по производству консервов. Т. 1: Консервы овощные и обеды. – М., 1977. – С. 430.
6. Mafart P., Leguerinel I. Modeling Combined Effects of Temperature and pH on Heat Resistance of Spores by a Linear-Bigelow Equation // Journal of Food Science. – 1988. – Vol. 63. – P. 1365–2621.
7. Руководство по разработке режимов стерилизации и пастеризации консервируемой продукции/ ГНУ ВНИИКОП. – 2011. – 4 с.
8. Anderson N. M., Larkin J. W., Cole M. B. Supplement Food Safety Objective Approach for Controlling Clostridium botulinum Growth and Toxin Production in Commercially Sterile Foods // Journal of Food Protection. 2013. – Vol. 74, N 11. – P. 1956–1989.
9. Бабарин В.П. Стерилизация консервов: справочник. – СПб: ГИОРД, 2006. – 312 с.
10. Изучение кинетики гибели спор *Clostridium botulinum* при производстве гетерогенных консервированных продуктов / М.Т. Левшенко, Б.Л. Каневский, Г.П. Покудина, Л.А. Борченкова// Материалы конгресса «Наука, питание и здоровье» (Респ. Беларусь, г. Минск, 8–9 июня 2017 г.). – Минск, 2017. – С. 431–438.
11. Thermal Inactivation Kinetics of Bacillus Coagulans Spores in Tomato Juice/ J. Peng, J.-H. Man, R. Somavat [et al.] // Journal of Food Protection. – 2012. – Vol. 75, N 7. – P. 1236–1242.
12. ГОСТ ISO 7218–2015 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям. – М.: Стандартинформ, 2016.
13. Instruction Manual HANNA pH 210, pH 211, pH 212, pH 213. Microprocessor-based Bench pH/mV/ C Meters. – 1978.

REFERENCES

1. Predicting the Quality of Pasteurized Vegetables Using Kinetic Models: A Review. /M. Aamir, M. Ovissipour, S. S. Sablani, B. Rasco// International Journal of Food Science. – 2013. – Vol. 2013, Article ID 271271. P. 29.
2. Analiz i otsenka kachestva konservov po mikrobiologicheskim pokazatelyam. / N.N. Mazohina-Porshnyakova, L.P. NaydYonova, S.A. Nikolaeva, L.I. Rozanova M.: Pisch. Prom-st, 1977. – 471 s.
3. Mazohina-Porshnyakova N.N. Podavlenie vzbuditeley botulizma v pischevyih produktah. – M.: Agropromizdat, 1989. – 176 s.
4. Evaluation and Definition of Potentially Hazardous Foods// A Report of the Institute of Food Technologists for the Food and Drug Administration of the United States Department of Health and Human Services. – 2001. – Vol. 2. P. 23.
5. Sbornik tehnologicheskikh instruktsiy po proizvodstvu konservov. T. 1: Konservyi ovoschnyye i obednyie. – M., 1977. – S. 430.
6. Mafart P., Leguerinel I. Modeling Combined Effects of Temperature and pH on Heat Resistance of Spores by a Linear-Bigelow Equation.// Journal of Food Science. – 1988. Vol. 63. – P. 1365–2621.

7. Rukovodstvo po razrabotke rezhimov sterilizatsii i pasterizatsii konserviruemoy produktsii/ GNU VNIKOP. – 2011. – 4 с.
8. Anderson N. M., Larkin J. W., Cole M. B. Supplement Food Safety Objective Approach for Controlling *Clostridium botulinum* Growth and Toxin Production in Commercially Sterile Foods // Journal of Food Protection. 2013. – Vol. 74, N 11. – P. 1956–1989.
9. Babarin V. P. Sterilizatsiya konservov: spravochnik. – SPb. GIOR, 2006. – 312 s.
10. Izuchenie kinetiki gibeli spor *Clostridium botulinum* pri proizvodstve geterogennykh konservirovannykh produktov // M. T. Levshenko, B. L. Kanevskiy, G. P. Pokudina, L. A. Borchenkova // Materialy kongressa «Nauka, pitanie i zdorove» (Resp. Belarus, g. Minsk, 8–9 iyunya 2017 g.). / Minsk, 2017. – S. 431–438.
11. Thermal Inactivation Kinetics of *Bacillus Coagulans* Spores in Tomato Juice/ J. Peng, J. – H. Man, R. Somavat [et. al.] // Journal of Food Protection. – 2012. Vol. 75, N. 7. P. 1236–1242.
12. GOST ISO 7218–2015 Mikrobiologiya pischevykh produktov i kormov dlya zhivotnykh. Obshchie trebovaniya i rekomendatsii po mikrobiologicheskim issledovaniyam – M.: Standartinform, 2016.
13. Instruction Manual HANNA pH 210, pH 211, pH 212, pH 213. Microprocessor-based Bench pH/mV/ C Meters – 1978.