

# Эффективная криодеструкция сапрофитных микроорганизмов на поверхностях пищевых продуктов

Канд. техн. наук В.В. БУДРИК  
ООО «Криотек» (Москва)

*The analysis has been performed of temperature variations influence on unicellular and multicellular organisms, which, as is well known, adapted for conditions of life on the Earth with temperature cycling from -60 to +50 °C. It made it possible to propose and prove physically the efficient method of cryodestruction and elimination of saprogenic microorganisms, which cover a surface of various foodstuffs (the meat, fish, curds, sliced fruits, vegetables, cheese etc.) and result in their decay and spoilage. For realization of this method in the food-processing industry, the high performance device is developed that ensures guaranteed cryodestruction of saprogenic microorganisms in the process of intensive cooling (above 30 kW/m<sup>2</sup>) and freezing of the surface layer to 2 mm of different shape foodstuffs. The offered method is more efficient than an existing industrial method of foodstuffs surfaces thermal treatment, especially regarding foodstuffs original quality keeping.*

Часто при подготовке к хранению и использованию пищевых продуктов (мясных, рыбных, творожных, резаных фруктов, овощей, сыров и т.д.) их поверхности покрываются вредными сапрофитными микроорганизмами (дрожжеподобные и плесневые грибы, бактерии и др.), которые питаются и размножаются на продуктах, приводя к их гниению и порче.

Все одно- и многоклеточные организмы (вплоть до человека) адаптировались за многие тысячелетия к условиям жизни на Земле с циклическим изменением температуры от -60 до +50 °C.

Почти все микроорганизмы активно живут и размножаются при наличии питательных веществ и оптимальной для них температуре (20...35 °C). При этом на их жизнеспособность практически не влияют характерное для земных условий многократное охлаждение, замораживание, оттаивание и перегрев.

В качестве характерного примера выживаемости простых одноклеточных организмов приведем результаты работы [12] по изучению влияния многократного замораживания и оттаивания на жизнеспособность, морфологические и некоторые биологические признаки (ферментация углеводов) патогенных, условно-патогенных и сапрофитных грибов. В качестве объектов для исследования использовали музейные и свежевыделенные штаммы актиномицетов, дерматофитов, дрожжеподобных и плесневых грибов (более 40 штаммов). Исходные культуры микроорганизмов выращивали на среде Сабуро с глюкозой или на мясопептонном агаре при 28...37 °C в стандартных пробирках в течение 2...12 сут (в зависимости от скорости роста). Зрелые культуры с хорошо выраженным органами плодоношения и обильным коли-

чеством макро- и микроконидий помещали в низкотемпературный холодильный шкаф «Гренланд» и хранили при температуре -20 °C. Ежедневно штативы с пробирками извлекали из шкафа, оставляли при комнатной температуре до полного размораживания питательной среды и культуры и производили контрольные высеывания, после чего микроорганизмы вновь подвергали замораживанию. Эту процедуру повторяли 5 раз в неделю в течение 3 мес. В дополнительных опытах режим хранения при -20 °C составлял 15 мес.

В результате проведенных наблюдений установлено, что все штаммы дерматофитов и плесневых грибов сохраняли жизнеспособность после 54 повторных циклов замораживания-оттаивания. Получаемые при контрольных высеиваниях субкультуры возбудителей дерматомикозов и сапрофитных плесневых грибов имели типичные морфологические признаки. У отдельных штаммов в субкультурах, полученных из исходных культур после 30 – 40 циклов, отмечено более интенсивное пигментообразование, а также более раннее и интенсивное спорообразование. Таким образом, полученные данные убедительно свидетельствуют о том, что многократное замораживание и оттаивание не влияют на жизнеспособность и морфобиологические признаки микроорганизмов.

Заметим, что в проведенных исследованиях время охлаждения от комнатной температуры до 0 °C микроорганизмов совместно с питательной средой в опытных стеклянных пробирках (т.е. после установки этих пробирок вместе со штативом в холодильный шкаф с естественной конвекцией воздуха при средней температуре -20 °C) составляло не менее 5 мин, в чем легко убедить-

ся, поместив миниатюрный датчик температуры в питательную среду внутри пробирки. Следовательно, скорость охлаждения клеток в среднем не превышала 4 °C/мин, что хорошо согласуется с представленным ниже значением оптимальной скорости охлаждения.

Охлаждение клеточного организма (совместно с питательной средой) ниже оптимальной для него температуры приводит к сильному замедлению, а в области температур от 5 °C до температуры замерзания  $T_3 \approx -2$  °C – к приостановлению процессов жизнедеятельности. Затем при отогреве до оптимальной температуры жизнедеятельность клеточного организма восстанавливается.

Процесс замораживания-оттаивания опасен для жизни клетки. Она гибнет в случае разрушения ее мембраны при кристаллизации и рекристаллизации внутриклеточной воды. Поэтому клетка всегда рефлекторно приготавливается к возможному замораживанию-оттаиванию уже в процессе ее охлаждения от 15 до 5 °C, осуществляя постепенное вытеснение через поры мембранный основной части воды цитоплазмы в межклеточное пространство. Концентрация солей остающейся биологической супензии цитоплазмы достаточно высока. Такие «выжатые» клетки, как правило, не разрушаются при замораживании и криохранении даже при температуре –60 °C и ниже и сохраняют жизнеспособность [1, 4, 5].

В случае роста окружающей температуры выше 30 °C микроорганизмы осуществляют (с целью поддержания своей оптимальной температуры) постепенное выделение наружную поверхность воды, которая частично или полностью испаряется. Это подобно рефлекторному процессу потовоуделения, происходящему при перегреве организма. У микроорганизмов выделяемая часть межклеточной воды пополняется в основном из питательной среды. При этом мощность охлаждения от испарения единицы количества влаги со скоростью  $G_i = 1$  г/с на некоторой поверхности продукта в относительно сухом воздухе составляет за счет скрытой теплоты испарения  $r = 2250$  Дж/г значительную величину:  $Q_i = G_i r = 2,25$  кВт. В этой связи на жизнедеятельность микроорганизмов не оказывает влияние медленный перегрев их совместно с питательной средой, т.е. когда теплопередача осуществляется при естественной конвекции воздуха с температурой, например, 50...70 °C, которая поддерживается в течение дня или 12 ч.

Следует отметить, что существующая реакция живой клетки на охлаждение успешно используется в биологии и медицине для криоконсервации клеток мозга, крови (эритроцитов), сперматозоидов, эмбрионов и других организмов, находящихся в определенных защитно-питательных растворах. Целью криоконсервации является обеспечение сохранности функций и свойств живых клеток после осуществления процессов охлаждения, замораживания, криохранения и отогрева [3, 5, 6].

Эмпирически выявлена величина оптимальной скорости охлаждения живых клеток от комнатной температуры (20 °C) до 5 °C, рекомендуемое значение которой составляет 1...5 °C/мин. Затем возможно криоохранение охлажденного биопродукта в защитно-питательной среде в течение нескольких часов [1, 11]. Очевидно, такая относительно медленная скорость охлаждения обусловлена теплопередачей при естественных для Земли условиях и, следовательно, необходима живым клеткам, чтобы они успели среагировать и вытеснить через мембранный «опасный излишек» внутриклеточной воды.

Знание величины оптимальной скорости охлаждения клеток, нужной для сохранения их жизнеспособности, позволяет обоснованно предложить и противоположный криоконсервации метод гарантированной криодеструкции (разрушения и гибели) живых клеток, в частности сапрофитных микроорганизмов на поверхностях пищевых продуктов. Для этого необходимо организовать интенсивное охлаждение поверхностного слоя продукта глубиной до 1 мм от комнатной температуры до температуры кристаллизации  $T_3 \approx -2$  °C со скоростью в 10 – 100 раз выше, чем 5 °C/мин, а затем его замораживание. При этом микроорганизмы практически не успеют среагировать на охлаждение и разрушаться в процессе замораживания.

Подобный метод успешно используется в криохирургии [1, 3, 5, 6], позволяя осуществить криодеструкцию клеток в заданном объеме патологической ткани как на поверхности тела, так и в глубине органа без повреждения окружающих здоровых клеток.

В работе [1] представлен ряд практических примеров по оценочному расчету процесса теплопередачи, и в частности изменения температуры в глубине тела при различных конвективных условиях охлаждения (нагревания) поверхности тела, а также известная из условий подобия в теплопередаче номограмма с удобными для практических расчетов координатами: безразмерная температура  $(T_t - T)/(T_t - T_0)$  в зависимости от модифицированного числа Фруда

$$X = 0,5 \chi_t / (u_t \tau)^{0,5}$$

при разных значениях параметра

$$Bi \cdot Fo^{0,5} = \alpha_0 (u_t \tau)^{0,5} / \lambda_t,$$

где  $T$  – искомая (либо задаваемая) температура тела (продукта) на некоторой глубине  $\chi_t$  от охлаждающей поверхности;

$T_0$  и  $T_t$  – температура хладоносителя и начальная температура продукта соответственно;

$u_t = [\lambda_t / (c\rho)]_t$  – коэффициент температуропроводности продукта,  $\text{м}^2/\text{с}$ ;

$c$  – теплоемкость продукта,  $\text{Дж}/(\text{кг}\cdot\text{К})$ ;

$\rho$  – плотность продукта,  $\text{кг}/\text{м}^3$ ;

$\tau$  – время, с;

$\lambda_t$  – коэффициент теплопроводности продукта,  $\text{Вт}/(\text{м}\cdot\text{К})$ ;

$\alpha_0$  – средний по поверхности продукта коэффициент

теплоотдачи к хладоносителю, Вт/(м<sup>2</sup>·К), определяемый из известных в теплопередаче условий подобия согласно задаваемым конвективным условиям [2, 7, 9].

Чтобы достигнуть высокой скорости охлаждения 1...20 °С/с для осуществления гарантированной криодеструкции микроорганизмов в поверхностном слое продуктов на глубине до 0,5 мм, необходимо отводить от поверхности  $S$  удельный тепловой поток

$$q_0 = Q_0/S = \alpha_0 (T_{cp} - T_0),$$

где  $T_{cp} = 0,5 (T_r + T_3) \approx 10$  °С, (1)

превышающий (по простым оценочным расчетам с использованием указанной в [1] номограммы) величину 10 кВт/м<sup>2</sup>.

Приведенное соотношение (1) показывает, что поставленная цель трудно осуществима в случае использования стандартных холодильных установок с температурой кипения хладагента –40 °С (и тем более выше), так как интенсивность теплоотдачи  $\alpha_0$  от поверхности продукта (со всех сторон его каждого отдельного кусочка) должна быть существенно выше, чем 200 Вт/(м<sup>2</sup>·К). Достигнуть этого очень сложно в промышленном аппарате с вынужденным движением газообразного хладоносителя (воздуха). Проблематично и применение для этого контактных плиточных испарителей. Для сравнения укажем, что интенсивность теплоотдачи к воздуху при естественной конвекции составляет 5...10 Вт/(м<sup>2</sup>·К).

С учетом изложенного для осуществления гарантированной криодеструкции вредных микроорганизмов на поверхностях пищевых продуктов разной конфигурации разработан под руководством автора настоящей работы ([www.cryotec.ru](http://www.cryotec.ru)) высокоэффективный и конкурентоспособный промышленный аппарат с экономичным расходованием жидкого азота.

Принцип его работы заключается в следующем. Пищевой продукт, например, в виде малых шариков или ломтиков с характерным габаритным размером около 1 см засыпают примерно по 1 кг в пакеты из тонкой (до 0,2 мм) перфорированной фторопластовой пленки. Однотипные пакеты с продуктом поступают с помощью транспортера во внутреннюю полость аппарата, где последовательно по одному или одновременно по два погружаются на 2 с в жидкий азот. При этом каждый ломтик продукта в пакете оказывается во взвешенном состоянии, и кипящий азот легко проникает практически ко всей наружной поверхности кусочков и примерно за 1 с охлаждает ее до температуры кристаллизации, а за следующую секунду замораживает на глубину до 0,5 мм в режиме пленочного кипения азота.

Затем пакеты с продуктом перемещаются по вертикальному винтовому каналу, где происходит дальнейшее замораживание поверхностного слоя продукта на глубину около 1 мм в результате теплообмена с газообразным потоком азота, который образуется в процессе кипения и по ходу изменяет температуру от –196 °С до

–10 °С в условиях вынужденной конвекции, организованной с помощью вентиляторов.

На выходе из аппарата перфорированные пакеты с продуктом целесообразно дополнительно упаковывать в герметичные пакеты со средой сухого газообразного азота, выходящего из аппарата. Как известно, азотная среда является инертной, безопасной и эффективной для хранения пищевых продуктов. В дальнейшем продукт с замороженным поверхностным слоем можно использовать как для приготовления разных пищевых смесей, так и для традиционного криохранения в холодильных камерах в замороженном либо охлажденном виде. При этом достигается существенное увеличение срока сохранности первоначального качества продукта.

При пленочном кипении теплопередача от поверхности стенки (продукта) к жидкости всегда осуществляется через тонкую генерируемую паровую прослойку. То есть пока температура стенки выше температурной границы устойчивости метастабильного состояния (для азота это примерно –150 °С), жидкость не может смачивать поверхность стенки. Коэффициент теплоотдачи при пленочном кипении азота для рассматриваемых условий составляет  $\alpha_0 \approx 160$  Вт/(м<sup>2</sup>·К) [1, 9]. При этом отводимая плотность теплового потока (1) от наружной поверхности продукта при изменении температуры от 25 °С до  $T_3 \approx –2$  °С будет в 1-ю секунду кипения

$Q_0/S = \alpha_0 (T_{cp} - T_0) = 160 (11 + 196) = 33000$  Вт/м<sup>2</sup>, а во 2-ю секунду – 31 кВт/м<sup>2</sup>. Следовательно, в процессе кипения при  $S = 1$  м<sup>2</sup> образуется средний расход газообразного азота

$$G_V = Q_0/r = 32000/200000 = 0,16 \text{ кг/с},$$

где  $r$  – теплота парообразования, Дж/кг.

С учетом дополнительных потерь тепла на захолаживание тонкой пленки пакетов и на теплоприток в общей сумме 0,1  $Q_0$  получаем  $G_V \approx 0,18$  кг/с. Соответственно для дальнейшего замораживания продукта используется тепловой поток

$$Q_{0V} = G_V C_p (T_{вых} - T_{вх}) = 0,18 \cdot 10^3 \cdot 185 = 33300 \text{ Вт}.$$

Величина поверхности продукта  $S$  определяет его массу (и наоборот) при известных значениях плотности и габаритных размеров его кусочков. Например, значению наружной поверхности продукта  $S = 1$  м<sup>2</sup> соответствует масса примерно 2 кг при характерном габаритном размере ломтиков около 1 см либо 50 кг при характерном габаритном размере куска около 0,5 м. Следовательно, расход азота составит примерно 0,09 кг на 1 кг мелкого пищевого продукта и будет значительно уменьшаться на каждый килограмм продукта с ростом характерного габаритного размера его кусков. Значит, эксплуатационные затраты на жидкий азот не превысят 0,5 руб. на 1 кг мелкого продукта (и будут существенно снижаться с ростом характерного габаритного размера кусочков продуктов) при тарифе 7 руб. за 1 кг жидкого азота. Производительность этого конвейерного аппарата может варьироваться в широком диапазоне

не – от 700 кг/ч до многих тонн в час различных пищевых продуктов.

При термической обработке, применяемой в настоящее время для уничтожения сапрофитных микроорганизмов на поверхностях пищевых продуктов, всю поверхность продуктов нагревают выше 70 °С. В пищевой промышленности для этого используют, как правило, водяной пар. Существующие промышленные методы термообработки поверхности пищевых продуктов значительно менее эффективны, особенно по обеспечению сохранности первоначального качества продукта, чем вышепредложенный метод криодеструкции микроорганизмов.

Для повышения эффективности методов термообработки необходимо значительно увеличить интенсивность нагрева наружной поверхности каждого ломтика продуктов, чтобы обеспечить меньшее чем за 30 с достижение температуры 70 °С на глубине около 1 мм. Например, в случае использования водяного пара с температурой 200 °С интенсивность теплоотдачи должна быть существенно выше 150 Вт/(м<sup>2</sup>·К). Однако реализовать такие условия теплопередачи в аппаратах для пищевой промышленности очень сложно [2]. С уменьшением коэффициента теплоотдачи  $\alpha_0 < 150 \text{ Вт}/(\text{м}^2 \cdot \text{К})$ , и, следовательно, мощности нагрева  $Q_0$  происходит значительное увеличение промежутка времени до достижения нужной температуры (более 70 °С) на поверхности продукта и глубины перегрева его с изотермами выше 25 °С. Это приводит к существенным потерям влаги и первоначального качества пищевых продуктов.

С целью поддержания внешнего вида и качества продукта создают сложные технологические линии, например по переработке овощей, фруктов и ягод [10], где термообработку нарезанных ломтиков продукта осуществляют горячей (около 95 °С) водой. Затем выполняют операции по обезвоживанию продукта, по поддержанию внешнего вида и по замораживанию его в поточном скроморозильном аппарате. Далее замороженные ломтики загружают в многопозиционный дозатор для дозирования, возможного смешивания с другими овощами и для расфасовки в пакеты.

Вместо этих операций можно успешно применить предложенный нами криометод после этапа очистки продукта от кожуры или после ломтерезки перед использованием традиционного хранения продукта в холодильных камерах в охлажденном либо в замороженном виде. На данном этапе в существующих универсальных технологических линиях, как правило, предусмотрены операции по расфасовке и упаковке продукта с быстрой развозкой потребителям (ресторанам, столовым различным учреждений, школ, детских садов, больниц), что обусловлено его недолгим хранением. Следовательно, внедрение предлагаемого криометода позволит дополнительно исключить операции по обеспечению сохранности внешнего вида продукта и необходимость быстрой доставки потребителям.

## Вывод

Проведен анализ воздействия колебаний температуры на микроорганизмы. Это позволило предложить и физически обосновать эффективный метод криодеструкции и гибели сапрофитных микроорганизмов, которые покрывают поверхность разных продуктов (мясных, рыбных, творожных, резаных фруктов, овощей, сыров и т.д.) и приводят к их гниению и порче. Для реализации этого метода в пищевой промышленности разработан высокоэффективный аппарат, обеспечивающий гарантированную криодеструкцию вредных микроорганизмов в процессе интенсивного охлаждения (более 30 кВт/м<sup>2</sup>) и замораживания поверхностного слоя продуктов на глубину до 2 мм. Предлагаемый метод эффективнее существующего промышленного метода термообработки поверхностей пищевых продуктов, особенно в части поддержания сохранности первоначального качества продукта.

## Список литературы

1. Будрик В.В. Физические основы криометодов в медицине // Медицинская криология: Международный сборник трудов / Под ред. д-ра мед. наук В.И. Коченова. – Н.Новгород. 2004. Вып. 5.
2. Будрик В.В. Рациональная интенсификация теплообмена при разных условиях вынужденной конвекции. // Тепломассообмен – ММФ-96. Конвективный тепломассообмен. Т.1. Ч.2 – Минск: АНК «ИТМО им. А.В. Лыкова» АНБ, 1996.
3. Достижения криомедицины // Матер. Междунар. симпозиума. – С.-Петербург, 2001.
4. Лозина-Лозинский Л.К. Очерки по криобиологии. Адаптация и устойчивость организмов и клеток к низким температурам. – Л.: Наука, 1972.
5. Материалы Всесоюзной конференции «Развитие и применение криогенной техники в медицине» / Под. ред. Т.П.Птухи. – М., 1980.
6. Медицинская криология // Сб. науч. тр. к 40-летию криодеструкции с использованием жидкого азота и специальных устройств / Под ред. В.И. Коченова. 2001 – 2003. Вып. 1, 2, 3, 4. – Н.Новгород.
7. Михеев М.А., Михеева И.М. Основы теплопередачи. – М.: Энергия, 1977.
8. От молекул до человека / Пер. с англ. К.С.Бурдина, И.М. Пархоменко; Под ред. проф. Н.П. Наумова. – М.: Просвещение, 1973.
9. Теплопередача при низких температурах / Под ред. У. Фроста; Пер. с англ. под ред. Н.А. Амфимова. – М.: Мир, 1977.
10. Универсальная технологическая линия по переработке овощей, фруктов и ягод // Мороженое и замороженные продукты. 2005. № 8.
11. Цуцаева А.А. Холодовой стресс и биологические системы. – Киев: Наукова думка, 1991.
12. Чайка Н.А. Сохранение жизнеспособности некоторыми микроорганизмами при многократном замораживании и оттаивании // Развитие и применение криогенной техники в медицине: Материалы Всесоюзной конференции / Под ред. Т.П. Птухи. – М., 1980.