

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ОСНОВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЖИДКИХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

В.Д. Харитонов, Н.Е. Шерстнева

Федеральное Государственное Бюджетное Научное Учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» ФГБНУ «ВНИМИ», Москва, Россия

Условные обозначения:

УФО – ультрафиолетовая обработка

КОЕ – колониеобразующая единица

Введение

Интерес к изучению воздействия ультрафиолетового излучения (УФИ) на компоненты и микрофлору пищевых продуктов обусловлен перспективой их направленного использования для углубленного регулирования свойств получаемых продуктов. В целом УФИ вне зависимости от обрабатываемых продуктов питания может приводить к фототрансформации структурно-функциональной организации метаболических систем большинства микроорганизмов, оказывать влияние на биополимерные белки и нуклеиновые кислоты, а также на витаминный состав молока.

Несмотря на обширный материал, накопленный в данной области, точные суждения о механизмах воздействия УФИ на перечисленные выше показатели делать еще пока рано и исследования требуют дальнейшего продолжения.

Ультрафиолетовое излучение и его искусственные источники

Обычно ультрафиолетовое излучение подразделяют на 4 основные зоны: длинноволновый диапазон (320–400 нм), средневолновый диапазон (280–320 нм), коротковолновый диапазон (200–280 нм) и вакуумный (100–200 нм), при этом только второй и третий диапазон обладают бактерицидной активностью [1, 6].

В настоящее время наиболее распространенными в технике ультрафиолетовыми излучателями являются газоразрядные источники разнообразного типа.

По своей сути, газовый разряд – совокупность процессов, возникающих при протекании электрического тока через вещество, находящееся в газообразном состоянии. Обычно протекание тока становится возможным только после достаточной ионизации газа.

Активация или ионизация атомов ртути электронами (электрический разряд) – наиболее часто используемая технология получения УФИ. Основной причиной превалирования ртутных ламп над всеми остальными заключается в том, что ртуть – наиболее летучий из всех металлов. Активация ртути, находящейся в газообразном состоянии, достигается при сравнительно низких температурах. Кроме того, среди разрядов в газах и в парах металлов, применяющихся для получения УФИ, разряд в парах ртути дает в УФ спектре излучения наибольшее количество интенсивных линий.

В зависимости от давления паров ртути различают – разряд низкого давления, происходящий при давлении 0,01–1 мм.рт.ст. и разряд высокого давления, происходящий при давлении паров от 100 мм.рт.ст. до нескольких атмосфер. Спектры излучения высокого и низкого давлений содержат одни и те же линии, различаясь лишь по интенсивности. Основное достоинство ртутных ламп низкого давления состоит в том, что более 60% излучения приходится на линию с длиной волны $\lambda=253,7$ нм, лежащей в спектральной области максимального бактерицидного действия, в связи с чем они чаще других используются для борьбы с микробами. Ртутные лампы высокого давления дают более интенсивные линии при длинах волн свыше 254 нм, а линия 253,7 нм, напротив, теряет свое превалирующее значение.

Существенным недостатком непрерывных излучательных ламп является наличие риска загрязнения парами ртути окружающей среды при разрушении лампы.

Создание так называемых амальгамных ламп низкого давления, позволило повысить безопасность и увеличить мощность генерации УФ излучения с длиной волны 254 нм.

Среди других газоразрядных ламп чаще других используются импульсные ксеноновые или аргоновые лампы высокого давления. Спектр их излучения близок к спектру Солнца над стратосферой.

Преимущество ксеноновых импульсных ламп обусловлено более высокой бактерицидной активностью и меньшим временем экспозиции. Достоинством ксеноновых ламп является также то, что при случайном их разрушении окружающая среда не загрязняется парами ртути. Основными недостатками этих ламп, сдерживающими их широкое применение, является необходимость использования для их работы высоковольтной, сложной и дорогостоящей аппаратуры, а также сравнительно невысокий ресурс излучателя.

К сожалению в области пищевой биотехнологии сравнительные исследования различных типов ультрафиолетовых излучателей носят ограниченный характер.

Влияние УФИ на микрофлору пищевых продуктов

Изменения, происходящие под действием УФИ в бактериях и низших организмах, проходят следующие три стадии: возбуждение и усиление движения, начало деструктивных изменений, смерть клетки в результате фотохимических процессов. Кривая бактерицидной эффективности УФИ соответствует спектру поглощения нуклеиновых кислот, т.е. мишенью УФИ являются молекулы ДНК [2]. Однако, УФИ одних и тех же длин волн и одинаковой интенсивности обладает селективным бактерицидным действием, т.е. доза, которая убивает один тип бактерий, оказывает лишь угнетающее действие на других. Это прежде всего связано с уникальностью структуры ДНК каждого живого организма, в связи с чем, было установлено, что подверженность микроорганизмов действию излучения следующая: грамположительные бактерии < грамотрицательные бактерии < дрожжи < бактериальные споры < плесени < вирусы.

Самая чувствительная к действию ультрафиолетовых лучей функция клетки – деление. Облучение при определенной дозе вызывает остановку деления около 90% бактериальных клеток. Ультрафиолетовые лучи вызывают в нуклеиновых кислотах изменения, которые губительным образом влияют на рост, деление, наследственность клеток, т.е. на их основные проявления жизнедеятельности [2].

Также, существуют данные, доказывающие, что кроме прямого действия на ДНК, ультрафиолетовые лучи индуцируют косвенным путем мутации, вызывая в клетках образование свободных радикалов и перекисей, обладающих мутагенными свойствами. Такие же мутагенные вещества возникают под действием УФ-света в жидких питательных средах для культивирования бактерий, что заметно увеличивает у них частоту мутаций [3].

Однако точно судить о механизме воздействия ультрафиолетового воздействия на клетку пока еще рано, ввиду его малой изученности.

В целом инактивация под действием ультрафиолетового света происходит за счет вызванных нарушений в структуре ДНК микроорганизмов, что в свою очередь препятствует процессу репликации, а, следовательно, значительно сокращается скорость размножения бактерий.

Наиболее эффективно воздействует на микроорганизмы ультрафиолетовое излучение в диапазоне, лежащем между длинами волн 205 нм и 315 нм с пиком при длине волны в 265 нм [4]. Однако, если принять максимум эффекта за 100%, то активность лучей с длиной волны 290 нм составит 30%, 300 нм – 6%, а лучей лежащих на границе видимого света 400 нм, – 0,01% от максимальной.

Разные виды микроорганизмов обладают различной стойкостью к воздействию бактерицидного УФ излучения. При этом его воздействие может не только сопровождаться летальными изменениями микробных клеток, но и, по мнению некоторых ученых стрессовые

воздействия могут переводить часть клеток в покоящееся (пассивированное) состояние [5]. Однако исследований по этому направлению в области ультрафиолетовой обработки пищевых продуктов обнаружить не удалось.

В целом при УФ облучении микроорганизмов наблюдается экспоненциальная зависимость между количеством выживших микроорганизмов M_B , КОЕ/см³ и их начальным уровнем M_H , КОЕ/см³, которую можно аппроксимировать выражением [4]

$$M_B = M_H * e^{-\sigma_s * H_s}$$

где: σ_s – константа фоточувствительности для некоторых видов микроорганизмов при их облучении УФИ с длиной волны 253,7 нм, м²/Дж; H_s – значение дозы УФ излучения достаточное для уничтожения некоторых видов микроорганизмов.

В таблице 1 приведены значения констант для некоторых микроорганизмов при их облучении на поверхности УФ излучением с длиной волны 253,7 нм [6].

Таблица 1 – Константы фоточувствительности для некоторых микроорганизмов при облучении поверхности (σ_s , м²/Дж)

Бактерии	σ_s	Бактерии	σ_s
<i>Bacillus anthracis</i>	0,051	<i>Micrococcus sphaeroides</i>	0,053
<i>Bacillus subtilis (veg)</i>	0,032	<i>Salmonella enteritidis</i>	0,058
<i>Bacillus subtilis (spores)</i>	0,019	<i>Salmonella paratyphi</i>	0,072
<i>Campylobacter jejuni</i>	0,209	<i>Salmonella typhimurium</i>	0,029
<i>Eberthella typhosa</i>	0,108	<i>Shigella sonnei</i>	0,077
<i>E. coli</i>	0,077	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,047
<i>Klebsiella terrifani</i>	0,089	<i>Staphylococcus faecalis</i>	0,053
<i>Micrococcus candidus</i>	0,038	<i>Staphylococcus hemolyticus</i>	0,106
<i>Phytomonas tumefaciens</i>	0,023	<i>Streptococcus lactus</i>	0,037

Летальное действие УФИ на болезнетворные микроорганизмы и его несомненная эффективность давно хорошо известны и подтверждены многими испытаниями. Однако, возможность использования УФИ для обработки пищевых сред и продуктов питания нашло распространение достаточно недавно, так как жидкие пищевые продукты обладают сложным составом и имеют огромный спектр различных свойств и характеристик, таких как pH, количество растворенных частиц, поглощающая способность и т.п.

Наиболее положительные результаты и успешная эффективность достигнуты за счет использования УФИ при дезинфекции воды ввиду её высокой прозрачности при подавлении вирусов, бактерий, дрожжей, простейших организмов и других патогенов человека [7, 8, 9].

Успешные достижения получены так же при обработке обладающих высокой прозрачностью пищевых жидкостей, таких как растворы сахаров и соков [10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21]. Для последней группы это особенно важно, т.к. соки обладают низкой термостабильностью.

Известен ряд результатов исследований по обработке твердых пищевых продуктов. Например, в работе [22] описан успешный опыт по обработке тонкого слоя сахара-песка и полной деконтаминации *Bacillus stearotherophilus* в нем. В работах [23, 24, 25, 26, 27, 28] хорошо представлены успешные опыты по обработке твердых и сыпучих пищевых продуктов.

Большой круг исследований посвящен пищевым жидкостям, обладающим ограниченной прозрачностью (меланж, молоко и т.п.) [29, 30, 31, 32, 33, 34].

Например, при воздействии УФИ в дозе ~2,860 мДж/мл, и средней скорости потока 168 мл/мин, достигается снижение *Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis* в образцах молока с массовой долей жира 1,7% и 4% таблица 2.

Таблица 2 – Степень инактивации бактерий *Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis* в молоке с различной массовой долей жира

Штамм бактерии <i>Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis</i>	Количественное снижение клеток <i>Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis</i> после облучения различных сред		
	Middlebrook 7H9 broth	Молоко 1,7% жира	Молоко 4% жира
806 R	Снижение на 2,56 порядка	Снижение на 0,82 порядка	Снижение на 0,62 порядка
796 PSS	Снижение на 2,64 порядка	Снижение на 0,72 порядка	Снижение на 0,52 порядка
NCTC 8578	Снижение на 3,26 порядка	Снижение на 0,75 порядка	Снижение на 0,52 порядка

Как видно из результатов эксперимента, низкая проникаемость молока УФ излучением зависит не только от содержания жирового компонента, но в основной степени обусловлена экранирующей способностью белка, содержащегося в молоке. Также очевидно, что данный тип бактерий крайне стоек к ультрафиолетовому облучению, что подтверждает исследования других авторов [35, 36, 37] исследовавших инактивацию *Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis* при УФ-воздействии в воздухе и воде.

В работе, опубликованной французскими учеными [38] основной целью было изучение влияния дозы пульсационного УФ излучения при бактериальной инактивации *L. monocytogenes* Scott A, *L. monocytogenes* CNL, *Pseudomonas fluorescens* MF37 и *Ph. phosphoreum* в жидкой и твердой среде.

Обработку образцов проводили с помощью восьми ксеноновых ламп, расположенных концентрически на расстоянии 13,5 см от обрабатываемого образца. Совместное действие ламп обеспечивало дозу облучения 1,5 Дж/см², при длительности вспышки – 300 микросек, количество вспышек – 1–10. Выживаемость бактерий измерялась спустя 48 часов после облучения.

В ходе исследования было установлено, что инактивация бактерий, распределенных на поверхности питательной среды, вплоть до полного их уничтожения, достигается дозой УФ излучения от одной вспышки.

По сравнению с инактивацией в поверхностном слое, обработка бактерий, распределенных во всю глубину питательной среды, была не столь успешной. Результаты показали снижение обсемененности после 10 вспышек на 1,6; 2,03 и 4,78 порядков для *L. monocytogenes* Scott A, *L. monocytogenes* CNL и *Ps. fluorescens* MF37, соответственно. После 5 вспышек было достигнуто снижение обсемененности в 4,6 порядков для *Ph. phosphoreum*.

Уровень обсемененности бактериями также снижался и при их обработке в жидких средах. Однако снижение было весьма незначительным – не более 1 порядка для *L. monocytogenes* Scott A. и *L. Monocytogenes* CNL и не более 2 порядка для *Ps. fluorescens* и *Ph. phosphoreum*, что связано с низкой проникающей способностью УФ лучей.

По результатам исследования было установлено, что величина бактериальной инактивации напрямую зависит от количества излучаемой энергии. Было также отмечено, что при обработке жидкостей могут возникнуть ряд существенных проблем, связанных с теньвым эффектом, создаваемым различными частицами (белками-жирами-минералами), содержащимися в растворе.

В 2002 году, группа исследователей [39] провела достаточно серьезное испытание, целью которого было изучение влияния пульсационного УФ лазерного излучения (248 нм) на обеззараживание коровьего молока. Объем молока, помещенного в кварцевую кювету, составлял 1 мл. Рост микроорганизмов – мезофильных аэробов (*E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Salmonella choleraesuis*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila*, *Serratia marcescens*) был отмечен в образцах, облученных дозами от

0,3 до 6,66 Дж/см², однако при увеличении дозы до 12,6 Дж/см² и времени воздействия до 56 сек, не было обнаружено роста ни одного из указанных микроорганизмов в течение последующего 21 дня. Таким образом, авторы установили, что, в принципе, уровень бактериальной обсемененности возможно контролировать с помощью лазерного пульсационного ультрафиолетового излучателя, и достичь по крайней мере сокращения количества бактерий на 2 порядка.

В 2004 году в Государственном Университете Вирджинии (Virginia State University) Kristen E. Matak написала большую диссертационную работу, посвященную исследованию УФ воздействия на инактивацию патогенных бактерий в молоке [40].

Работа выполнялась на установке CiderSure 3500 UV (FPE, Inc., Rochester, NY), на которой уже были получены положительные результаты при обработке соков прямого отжима [41, 42, 43, 44].

В работе исследовалось воздействие УФ света на инактивацию *Escherichia coli* (штамм – АТСС 25922) в молоке с различным содержанием жира при различных температурных режимах. Для испытания были отобраны 3 образца: обезжиренное молоко (менее 1% жира), молоко с пониженным содержанием жира (2%), и цельное молоко (3,25% жира). Температура образцов составляла – 4°C и 20°C. Время обработки образца молока составило – 1,5 сек. Доза облучения образцов молока составила – 5,8 мДж/см². При соблюдении ламинарной скорости потока $V=0,676$ м/с.

По результатам исследования было установлено, что проницаемость молока, зависит от процентного содержания жира и существенно влияет на степень инактивации бактерий. Результаты эксперимента указаны в таблице 3.

Таблица 3 – Степень снижения количества *E. coli* в образцах молока с различным содержанием жира и при различных температурах

Образец	Степень снижения кол-ва <i>E. Coli</i> (на порядок КОЕ /см ³)	
Обезжиренное молоко (<1% жира)	2,29±0,17	2,27±0,10
Молоко низкой жирности (2% жира)	1,82±0,18	1,43±0,10
Цельное молоко (3,25%)	0,73±0,17	1,44±0,10
Температура образцов	4°C	20°C

Кроме того, было установлено, что температура обрабатываемого молока оказывает существенное влияние на степень инактивации бактерий. Так в цельном молоке с содержанием жира 3,2%, хранящемся при 20°C, после обработки ультрафиолетом, степень снижения количества бактерий *E.coli* в 2 раза превышала аналогичный показатель такого же молока, хранящегося при 4°C.

В.А. Чумаченко [45, 46] в своих исследованиях выяснил, что облучение обезжиренного молока дает более высокие результаты инактивации микрофлоры по сравнению с цельным молоком, что объясняется практически полным отсутствием жира в обезжиренном молоке, а, следовательно, более высокой проницаемостью среды.

В целом исследования проведенные в данной области позволили вплотную подойти к созданию промышленных установок для снижения бактериальной обсемененности молока [4, 47, 48, 49].

Влияние УФИ на витаминный состав пищевых продуктов

Витамины являются наиболее подверженными к воздействию УФИ компонентами. При длительном облучении растворов витаминов, а также их содержания в продуктах питания отмечено [50] снижение таких витаминов как витамин К, А, витамин В12, В2, фолиевая кислота, и токоферолы (витамины группы Е). Установлено также, что при длинах волн свыше 300 нм не происходит никаких значительных отклонений в содержании витамина С, однако, при стандартной бактерицидной длине волны 254 нм, происходит его постепенная деградация и распад (рисунок 1). Однако, следует отметить, что деградация витамина С

напрямую зависит от проницаемости раствора, в котором он находится. Так, к примеру (рисунок 2), разрушение витамина С в яблочном соке была примерно в 8 раз выше нежели в апельсиновом соке. [51] При этом интересным фактом, как показали результаты исследований [50] является то, что соки, обогащенные витамином С требуют значительно более высоких доз УФО для обеспечения эффекта пастеризации.

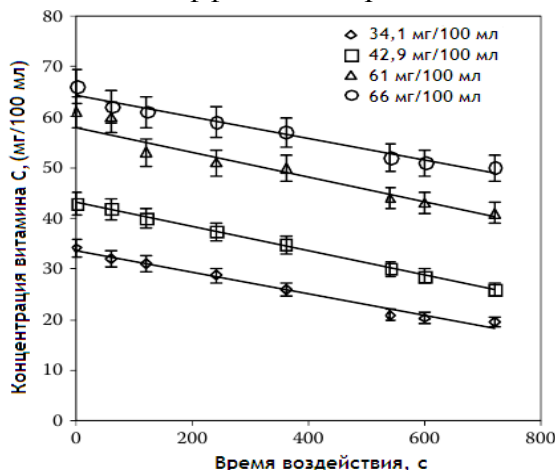


Рисунок 1 – Снижение количества витамина С в растворе после обработки УФИ

Витамин А – другой витамин наиболее сильно подверженный воздействию ультрафиолетового света. Как было установлено при изучении модельных растворов витамина А, при суммарной дозе облучения в 200 мДж/см^2 , экспозиция – 3 мин, потери витамина А составили около 50% от начальной концентрации [50].

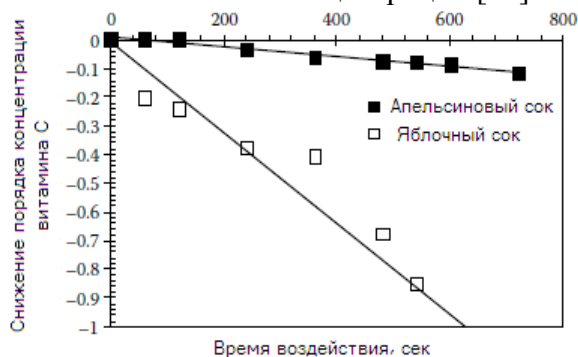


Рисунок 2 – Снижение количества витамина С в соках после обработки УФИ

При исследовании морковного сока [52] прошедшего УФ обработку, установлена гораздо большая резистентность β -каротина к облучению, нежели витамина А. За 800 секунд облучения статического образца потери β -каротина составили лишь 2%, тогда как витамина А – почти 10%. Подобная тенденция была отмечена и другими исследователями [51].

В одной из наиболее ранних работ, проведенной в 1942 году, учеными из Университета Висконсина, был проведен ряд тестов на изучение устойчивости витаминов молока к воздействию УФ излучения. Результаты работы не показали никаких значительных отклонений между содержанием витаминов β -каротина, А и В1 в исходном и обработанном молоке [53].

По данным Л.Н. Опариной, количество витамина С в облученном молоке снижается в среднем на 24,4% [54]. Позднее этот факт подтвердила в своей работе Е.А. Черных, которая в ходе облучения молока, в зависимости от режимов обработки, отметила снижение витамина С на 22–30% [55]. Е.А. Черных также не отметила значительных изменений в содержании витаминов β -каротина, А и В1.

Следует также отметить, что помимо негативного разрушающего действия на витаминный состав УФИ обладает особым уникальным свойством. В частности, одним из

наиболее известных физиологических эффектов УФ излучения является антирахитное действие. При авитаминозе витаминов группы D ухудшается фосфорно-кальциевый обмен, наблюдается снижение механической прочности костей, кариес зубов, склонность к костным переломам, у детей развивается рахит в естественных условиях. При облучении УФ с длиной волны 280–302 нм в коже образуются витамины группы D. Они оказывают существенное влияние на деятельность фермента фосфатазы, активируя её, что способствует мобилизации неорганического фосфора и связыванию кальция крови с фосфатами, которые откладываются в костях.

Естественно, что используя УФО можно интенсифицировать образование витаминов группы D в молоке. Технологии, направленные на реализацию этого направления известны, [56, 57] однако в силу специфических особенностей процесса и широкого использования метода прямого внесения витаминов в готовые пищевые продукты данные технологии не нашли пока широкого распространения.

Влияние УФ на белки, пептиды и качественные показатели продуктов питания.

Влияние ультрафиолетового воздействия на качественные показатели пищевых продуктов возможно подразделить на две категории. К первой относится воздействие на органолептические показатели продуктов (внешний вид, цвет, вкус и аромат). Ко второй группе относятся физико-химические изменения в составе продуктов или сырья. Пищевые продукты ввиду разнообразия своих свойств имеют очень разную восприимчивость к воздействию УФ. Еще в 1968 году двое немецких ученых [58] в своей работе, в ходе которой изучали воздействие солнечного света на пищевые продукты, подразделили продукты на четыре группы. Среди наиболее чувствительных к воздействию света они отметили сметану, взбитые сливки, сливочное масло, майонез и молоко. В этих продуктах было обнаружено образование неприятного горького привкуса уже после 1–2 часов хранения под лучами солнца. Сахар, печенье, шоколад, сырые сосиски и сало составили вторую группу продуктов, в которых признаки порчи присутствовали уже после 24–70 часов облучения. В рисе и картофеле отмечены изменения после 5–7 дней. К продуктам группы наименее восприимчивой к солнечному свету относились орехи и макароны – для них период наблюдения составил от двух до четырех недель. Современные исследования подтвердили и доказали правильность сделанных немецкими учеными выводов. Интенсивность воздействия света напрямую зависит от оптических свойств упаковки, температуры продукта, а также содержания в пище кислорода или воздуха.

Исследованиям окисления и прогорклости липидов (в основном молочных) посвящены многочисленные работы [59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66].

Окисление липидов является причиной немикробной порчи продуктов питания приводящей к серьезным изменениям их вкусовых характеристик [67, 62]. При этом главной причиной этого считается окисление ненасыщенных липидов [62]. Что касается скорости окисления, то она зависит в основном от степени насыщенности липидов, содержания липидов, содержания кислорода в зоне контакта УФ и продукта, присутствия антиоксидантов, наличия некоторых соединений, выступающих в роли катализаторов, например меди, вида упаковочных материалов, интенсивности УФ, температуры и т.п. [68]

Spikes [69] отмечал, что наиболее подверженными воздействию УФ незаменимыми аминокислотами являются аминокислоты, содержащие, подобно жирам в составе молекул ароматические кольца – гистидин, фенилаланин и триптофан. Следствием фотодеградации белков может стать образование неприятных запахов и изменение во вкусе продукта. Например, в молоке, неприятный вкус или запах появляющийся под длительным воздействием прямого ультрафиолетового излучения, или солнечного света, вызван активацией рибофлавина – витамина B₂, ответственного за образование метанола из аминокислоты – метионина. Также существуют факты образования пероксидов и свободных гидрофильных групп под действием которых возможны изменения в цвете, вкусе и запахе молока и молочных продуктов [70].

Основным достоинством ультрафиолетовой обработки молока помимо его бактерицидного эффекта является возможность обеспечения при определенных режимах минимального воздействия на белки [70, 71, 72, 73, 74]. В тоже время использование УФО позволяет обеспечивать целевое изменение структуры белков с целью придания им новых свойств. Например, группой ученых из Кореи и Японии был произведен эксперимент [75] по итогам которого было установлено, что воздействие ультрафиолетового излучения с длиной волны 253 нм на β -лактоглобулин, снижает его аллергенность, что, как считают сами авторы, связано с изменениями в молекулярной структуре белка. Схожие результаты были получены в ходе другого исследования, в результате которого французские ученые не обнаружили каких-либо изменений в общем белковом составе молока, подверженного воздействию пульсационного ультрафиолетового излучения, источником которого была ксеноновая лампа, (доза облучения – 2,2 Дж/см²; продолжительность вспышки – 0,3 мс; количество вспышек – 1÷10) при длине волны 280 нм), однако были отмечены изменения, произошедшие в молекулярной структуре β -лактоглобулина, что может косвенно свидетельствовать о возможности применения УФИ для снижения аллергенности молока [3]. Иных работ подобного уровня в данном направлении, по нашим данным, не проводились, в связи с чем, уверенно судить о подобном целевом воздействии ультрафиолетового излучения на белки молока пока что рано и требуются более глубокие исследования.

В перспективном исследовании [3] совместной группой ученых из Университета Висконсина, США, и Университетов Стелленбос и Вестерн Кейп, ЮАР, была проведена УФО и последующая пастеризация сырого молока, по итогам которых была проведена оценка органолептических показателей молока. Установлено, что совместное воздействие тепловой пастеризации и обработки ультрафиолетовым излучением оказывает фатальное действие на вкусовые свойства молока. В другом подобном исследовании [76] авторы утверждают, что молоко, обработанное исключительно УФИ имело гораздо более приятный вкус, нежели пастеризованное и ультрапастеризованное.

Однако, несмотря на кажущиеся сложности в применении УФИ – по-прежнему существует множество путей оптимизации процесса ультрафиолетовой обработки, позволяющих достичь желаемого эффекта с минимальными потерями качества конечного продукта.

Официальный статус метода ультрафиолетовой обработки молока в различных странах.

Управление по контролю за продуктами и лекарственными средствами (США) (далее – FDA, Food and Drug Administration) в 2000 году одобрило использование УФИ при обработке свежесжатых фруктовых соков и сокосодержащих напитков. В соответствии с этим положением, в первую очередь, были переработаны и исправлены имевшиеся ранее основные нормативные документы, а также в соответствии с возможной обработкой УФИ фруктовых соков, для них был разработан ряд новых показателей качества.

В нормативном документе [77] установлено, что для УФ обработки допускаются к использованию только ртутные лампы низкого давления, причем не менее 90% от всех испускаемых ими волн должны быть равны 253,7 нм. Однако FDA никаким образом не ограничивало максимальную дозу облучения, требуемую для достижения необходимых показателей качества. Представители FDA надеются, что УФИ будет использована при наиболее щадящих режимах, позволяющих сохранить органолептические свойства продукта наиболее приближенным к естественному (в т. ч. запах и цвет).

В соответствии с нормативным документом [77] в США обработка соков УФИ по своему статусу приравнивается к применению пищевых добавок. И хотя ультрафиолетовое излучение и не является пищевой добавкой как таковой, производители, применяющие УФ обработку, в любом случае обязаны выносить об этом соответствующие сведения на этикеточную надпись. Однако надпись, выносимая производителями свежих соков, прошедших обработку УФИ, не должна быть аналогичной сокам, прошедшим тепловую

обработку, т.е. термины «пастеризованный» или «стерилизованный», а также надпись «свежевыжатый» также запрещена для подобного вида соков.

Пульсационное УФИ было одобрено для обработки продуктов питания в 2005 году. FDA постановило, что пульсационное УФИ может быть свободно использовано для обработки продуктов при условии, что источником излучения могут служить только ксеноновые пульсационные лампы, покрывающие диапазон волн от 200 до 1000 нм, и работающие таким образом чтобы длительность одной вспышки не была более 2 миллисекунд. Поскольку при обработке продуктов пульсационным УФИ, в т.ч. жидкостей, используется технология кратковременного воздействия, то одним из основных нормируемых показателей является суммарная доза облучения, которая не должна превышать 12 Дж/см².

Однако по сравнению с США страны Европейского Союза по-прежнему относятся к использованию нетрадиционных методов обработки продуктов с достаточно большой осторожностью. На территории Европейского Союза в настоящее время действует постановление, относительно которого использование ультрафиолетового света не может быть разрешено по причине того, что использование каких-либо из видов излучения для обработки пищевых продуктов не достаточно урегулировано. Члены Евросоюза до сих пор ведут дискуссию относительно списка продуктов, разрешенных к обработке каким-либо из видов излучения. По ныне действующим правилам, использование какого-либо из видов излучений для применения в области производства пищевых продуктов может быть разрешено исключительно в случаях:

- действительной технологической необходимости
 - облучение не несет в себе вреда жизни и здоровья потребителя
 - облученный продукт полностью соответствует действующим нормам на этот продукт
 - облучение используется на благо потребителя
- излучение не является замещением операции, принятой в данной области промышленности и сельского хозяйства для обеспечения гигиены продукта и здоровья потребителя.

В связи с пристальным интересом к нетепловым методам обработки продуктов питания Национальным Наблюдательным Комитетом микробиологических критериев пищевых продуктов было изменено само понятие «пастеризация». С 2006 года Комитетом установлено, что пастеризация – это любой процесс или обработка, или их комбинация, которая позволяет снизить содержание болезнетворных микроорганизмов до уровня не представляющего для населения вреда при нормальных условиях его хранения и транспортировки. Подобное определение подразумевает глубокое исследование технологий нетепловой пастеризации, их безопасности, а также выявление устойчивых микроорганизмов или иных сложностей, связанных с применением данных технологий. Облучение продуктов питания ультрафиолетовым светом пока еще не отнесена Комитетом к способам пастеризации, что, по своей сути запрещает выпуск пищевых продуктов, а прежде всего соков и сокосодержащих напитков не прошедших тепловую обработку [78].

На территории Российской Федерации и республики Беларусь УФО не является одним из способов пастеризации, в связи с чем, питьевое молоко не может быть отпущено в реализацию без соответствующей тепловой обработки. В соответствии с техническим регламентом ФЗ № 88, «пастеризация – это процесс термической обработки сырого молока или продуктов его переработки. Пастеризация осуществляется при различных режимах (температура, время) при температуре от 63 до 120 градусов Цельсия с выдержкой, обеспечивающей снижение количества любых патогенных микроорганизмов в сыром молоке и продуктах его переработки до уровней, при которых эти микроорганизмы не наносят существенный вред здоровью человека. Низкотемпературная пастеризация осуществляется при температуре не выше 76 градусов Цельсия и сопровождается инактивацией щелочной фосфатазы. Высокотемпературная пастеризация осуществляется при различных режимах (температура, время) при температуре от 77 до 120 градусов Цельсия и сопровождается

инактивацией как фосфатазы, так и пероксидазы». В настоящий момент ни один из способов нетепловой обработки не разрешен к применению как замена тепловой пастеризации. Ни нормирующими документами, ни контролирующими организациями РФ пока еще не было выдано ни одного документа, позволяющего полностью исключить из технологического цикла тепловую пастеризацию. Известны несколько технологических разработок, получение питьевого пастеризованного молока в производственной цепочке которых присутствует возможность использования УФО, но не как замещающий пастеризацию этап, а как дополнение к нему.

Выводы

В настоящее время установлены основные факторы, влияющие на эффективность УФО на пищевые продукты. В то же время сложный состав пищевых продуктов, а также разнообразие технологических приемов их производства являются серьезными препятствием для получения данных об оптимальных параметрах УФО в условиях её эффективного масштабирования применительно к промышленным условиям. Наиболее перспективными направлениями реализации УФО являются разработки процессов снижения бактериальной обсемененности пищевых продуктов, а также направленное регулирование витаминного и белкового состава.

Список литературы

1. Continuous and Pulsed Ultraviolet Light for Nonthermal Treatment of Liquid Foods. Part 1: Effects on Quality of Fructose Solution, Apple Juice, and Milk / M. Orłowska [et al.] // *Food and Bioprocess Technology*. – 2013. – Vol. 6, Issue 6. – P. 1580–1592.
2. Akshay Kumar Anugu Microbial inactivation and allergen mitigation of food matrix by pulsed ultraviolet light [электронный ресурс]. – 2013. Режим доступа: <http://ufdc.ufl.edu/UFE0045406/00001>.
3. Effect of pulsed-light treatment on milk proteins and lipids / Noura Elmnasser [et al.] // *J. Agric Food Chem*. – 2008. – Vol. 56 (6). – P. 1984–1991.
4. Летаев, С.А. Обоснование параметров установки обеззараживания молока на фермах ультрафиолетовым и инфракрасным излучением: автореф. дис. ... канд. техн. наук: 05.20.02 / Летаев Сергей Алексеевич. – М., 2012. – 24 с.
5. Марьин, В.А. Исследование схем последовательности фаз роста периодической культуры бифидобактерий и лактобактерий / В.А. Марьин, Д.В. Харитонов // *Техника и технология пищевых производств*. – 2010. – № 4 (19). – С. 24–28.
6. Вассерман, А.Л. Проектирование и эксплуатация ультрафиолетовых бактерицидных установок / А.Л. Вассерман; под ред. Ю.Б. Поповского. – М., 2009. – 56 с.
7. Masschelein, W.J. Ultraviolet light in water and wastewater sanitation / W.J. Masschelein, R.G. Rice // Boca Raton: CRC Press., 2002. – 192 p.
8. UV dose required to achieve incremental log inactivation of bacteria, protozoa and viruses / G. Chevretil [et al.] // *IUVA News*. – 2006. – Vol. 8 (1). – P. 38–45.
9. Bolton, J.R. Ultraviolet applications handbook / J.R. Bolton // Bolton Photosciences Inc., Ayr, Ontario, Canada. – 2001.
10. Fan, X. Furan formation in sugar solution and apple cider upon ultraviolet treatment / X. Fan, D.J. Gevecke // *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. – 2007. – Vol. 55(19). – P. 7816–7821.
11. Ultraviolet disinfection of juice products in laminar and turbulent flow reactors / T. Koutchma [et al.] // *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. – 2004. – Vol. 5(2). – P. 179–189.
12. Choi, L.H. The effects of thermal and nonthermal processing methods on apple cider quality and consumer acceptability / L.H. Choi, S.S. Nelsen // *Journal of Food Quality*. – 2005. – Vol. 28(1). – P. 13–29.
13. Guerrero-Beltrán, J.A. Reduction of *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in apple juice by ultraviolet light / J.A. Guerrero-Beltrán, G.V. Barbosa-Ganovas // *Journal of Food Process Engineering*. – 2005. – Vol. 28(5). – P. 437–452.

14. Koutchma, T. Validation of UV coiled tube reactor for fresh juices / T. Koutchma, B. Parisi, E. Patazka // *Journal of Environmental Engineering and Science*. – 2007. – Vol. 6(3). – P. 319–328.
15. Ultraviolet radiation as a nonthermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice / M. Keyser [et al.] // *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. – 2008. – Vol. 9(3). – P. 348–354.
16. UV-C-inactivation of microorganisms in naturally cloudy apple juice using novel inactivation equipment based on Dean vortex technology / C. Franz [et al.] // *Food Control*. – 2009. – Vol. 20(11). – P. 1103–1107.
17. Manzocco, L. Polyphenoloxidase inactivation by light exposure in model systems and apple derivatives / L. Manzocco, B. Quarta, A. Dri // *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. – 2009. – Vol. 10(4). – P. 506–511.
18. Impact of selected combinations of non-thermal processing technologies on the quality of an apple and cranberry juice blend / I.M. Caminiti [et al.] // *Food Chemistry*. – 2011. – Vol. 124(4). – P. 1387–1392.
19. Use of high-intensity ultrasound and UV-C light to inactivate some microorganisms in fruit juices / C.D. Char [et al.] // *Food and Bioprocess Technology*. – 2010. – Vol. 3(6). – P. 797–803.
20. Oteiza, J.M. Ultraviolet treatment of orange juice to inactivate *E. coli* O157:H7 as affected by native microflora / J.M. Oteiza, L. Giannuzzi, N. Zaritzky // *Food and Bioprocess Technology*. – 2010. – Vol. 3(4). – P. 603–614.
21. Falguera, V. Effect of UV irradiation on enzymatic activities and physicochemical properties of apple juices from different varieties / V. Falguera, J. Pagan, A. Ibarz // *LWT- Food Science and Technology*. – 2011. – Vol. 44(1). – P. 115–119.
22. Lee, B.H. Thermal, ultrasonic and ultraviolet inactivation of *Salmonella* in thin films of aqueous media and chocolate / B.H. Lee, B.E. Kermasha, B.E. Baker // *Food Microbiol.* – 1989. – Vol. 6. – P. 143–152.
23. Weiser, H.H. *Practical Food Microbiology and Technology* / H.H. Weiser // AVI Publishing: Westport, CT. – 1962. – 268 p.
24. Reagan, J.O. Use of ultraviolet light for extending the retail caselife of beef / J.O. Reagan, C.G. Smith, Z.L. Carpenter // *J. Food Sci.* – 1973. – 38. – P. 929–931.
25. Huang, Y.W. Effect of high and low intensity UV irradiation on surface microbiological counts and storage-life of fish / Y.W. Huang, R. Toledo // *J. Food Sci.* – 1982. – Vol. 47. – P. 1667–1669, 1731.
26. Stermer, R.A. Ultraviolet radiation – An effective bactericide for fresh meat / R.A. Stermer, M. Lasater-Smith, C. F. Brassington // *J. Food Prot.* – 1987. – Vol. 50. – P. 108–111.
27. The use of ultraviolet radiation to reduce *Salmonella* and psychrotropic bacterial contamination on poultry carcasses / E.A. Wallner-Pendleton [et al.] // *Poultry Sci.* – 1994. – Vol. 73. – P. 571–573.
28. Kuo, F.L. UV irradiation of shell eggs: Effect on populations of aerobes, moulds, and inoculated *Salmonella typhimurium* / F. L. Kuo, J. B. Carey, S. C. Ricke // *J. Food Prot.* – 1997. – Vol. 60. – P. 639–643.
29. Ngadi, M. Kinetics of ultraviolet light inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in liquid foods / M. Ngadi, J. P. Smith, B. Cayouette // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 2003. – Vol. 83(15). – P. 1551–1555.
30. Proctor, B.E. Electromagnetic radiation fundamentals and their applications in food technology / B.E. Proctor, S.A. Goldbith // *Adv in Food Research*. – 1951. – Vol. 3. – P. 120–196.
31. Wishner, L.A. Light-induced oxidations in milk / L.A. Wishner // *Journal of Dairy Science*. – 1964. – Vol. 47. – P. 216–221.
32. Yousef, A.E. Use of ultraviolet energy to degrade aflatoxin M1 in raw or heated milk with and without added peroxide / A.E. Youself, E.H. Marth // *Journal of Dairy Science*. – 1986. – Vol. 69. – P. 2243–2247.

33. Altic, L.C. UV light inactivation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in milk as assessed by FASTPlaqueTB phage assay and culture / L.C. Altic, M.T. Rowe, I.R. Grant // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2007. – Vol. 73(11). – P. 3728–3733.
34. Krishnamurthy, K. Inactivation of *Staphylococcus aureus* in milk using flow-through pulsed UV-light treatment system / K. Krishnamurthy, A. Demirci, J. M. Irudayray // *Journal of Food Science*. – 2007. – Vol. 72(7). – P. M233–M239.
35. Collins, F.M. Relative susceptibility of acid-fast and non-acid-fast bacteria to ultraviolet light / F.M. Collins // *Appl. Microbiol.* – 1971. – Vol. 21. – P.411–413.
36. Guerrero-Beltrán, J.A. Review: advantages and limitations on processing foods by UV light / J.A. Guerrero-Beltrán, G.V. Barbosa-Cánovas // *Food Sci. Technol. Int.* – 2004. – Vol. 10. – P. 137–147.
37. Peccia, J. UV-induced inactivation rates for airborne *Mycobacterium bovis* BCG / J. Peccia, M. Hernandez J. Occup // *Environ. Hyg.* – 2004. – Vol. 1. – P. 430–435.
38. Bacterial inactivation using pulsed light / N. Elmnasser [et al.] // *Acta Alimentaria*. – 2007. – Vol. 36 (3). – P. 401–408.
39. New methods for UV treatment of milk for improved food safety and product quality / D. J. Reinemann [et al.] // ASABE paper no. 066088. American Society of Agricultural and Biological Engineers (ASABE), St. Joseph, MI. – 2006.
40. Matak, K.E. Effects of UV Irradiation on the Reduction of Bacterial Pathogens and Chemical Indicators of Milk, 2004. [электронный ресурс]. – режим доступа: <http://scholar.lib.vt.edu/theses/available/etd-12012004-170927/unrestricted/ETD1.pdf>
41. Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts in fresh apple cider using ultraviolet irradiation / D.E. Hanes [et al.] // *Appl. Environ. Micro.* – 2002. – Vol. 68. – P. 4168–4172.
42. Influence of apple cultivars on inactivation of different strains of *Escherichia coli* O157:H7 in apple cider by UV irradiation / N. Basaran [et al.] // *Appl Environ Microbiol.* – 2004. – Vol. 70(10). – P. 6061–6065.
43. Modeling of *Escherichia coli* inactivation by UV irradiation at different pHs in apple cider / A. Quintero-Ramos [et al.] // *J. Food Prot.* – 2004. – Vol. 67(6). – P. 1153–1156.
44. Efficacy of ultraviolet light for reducing *Escherichia coli* O157:H7 in unpasteurized apple cider / J. R. Wright [et al.] // *J Food Prot.* – 2000. – Vol. 63. – P. 563–567.
45. Чумаченко, В.А. Применение УФ-излучения для обеззараживания молока / В.А. Чумаченко, В.Н. Сухинин, В.А. Пичак // *Животноводство*. – 1976. – №1. – С. 75–76.
46. Чумаченко, В.А. Изучение бактерицидной активности ультрафиолетовых лучей при облучении молока и обраты в тонком слое / В.А. Чумаченко, В.Н. Павличенко, В.А. Пичак // *Науч.-тех. бюл. по механизации и электрификации животноводства*. – 1975. – Вып. 3. – С. 21–25.
47. Черных, Е.А. Влияние ультрафиолетовой обработки молока коров на его биохимические, технологические и гигиенические свойства: автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.04 / Черных Екатерина Александровна. – М., 2006. – 31 с.
48. Установка для обработки молока и сыворотки ультрафиолетовым излучением / Б.С. Гаврюшенко [и др.] // *Материалы международной научно-практической конференции*. – 2013. – С. 144–146.
49. Черных, Е.А. Влияние ультрафиолетовой обработки на состав и свойства коровьего молока / Е.А. Черных, Е.А. Юрова // *Переработка молока*. – 2006. – № 4. – С. 31.
50. Koutchma, T.N. Ultraviolet light in food technology. Principles and applications / T.N. Koutchma, L.J. Forney, C.I. Moraru // CRC Press: USA. – 2009. – 279 p.
51. California Day-Fresh foods Inc. / A food additive petition for the use of ultraviolet light in the reduction of microorganisms on juice products // Submitted to FDA regarding CFR 21 179. Glendore, CA: California Day-Fresh foods Inc. – 1999. – P. 1–117.
52. Adhikari, C. Effects of UV radiation on lipids, antioxidants, and vitamins in foods. Abstract of presentation at the AOCS Annual Meeting // C. Adhikari, T. Koutchma // 93rd AOCS Annual Meeting, Montreal. – 2002.

53. Irvin Fuin, Effect of ultraviolet radiation / Fuin Irvin // Department of Biochemistry, College of Agriculture, University of Wisconsin, Madison – 1942. – Vol. 21. – P. 643–646.
54. Опарина, Л.Н. Влияние ультрафиолетовых лучей на физико-химические и технологические свойства молока: автореф. дис. ... канд.с.-х. наук. – М., 1968. – 20 с.
55. Черных, Е.А. Влияние ультрафиолета на состав и свойства молока / Е.А. Черных, Е.А. Юрова // Молочная промышленность. – 2006. – № 7. – С. 32.
56. Norman, A.W. 2000. Vitamin D and milk [электронный ресурс] / A.W. Norman // Department of Biochemistry and Biomedical Science University of California. Режим доступа: <http://vitamin.d.ucr.edu/milk.html>.
57. Burton, H. Ultra-violet irradiation of milk / H. Burton // Dairy Sci.Abstr. – 1951. – Vol. 13(3). – P. 229–244.
58. Heiss, R. Uber den einuss von licht, sauerstoff und temperatur auf die haltbarkeit verpackter ebensmittel / R. Heiss, R. Radteke // Verpack. Rundsch. – 1968. – Vol. 19 (3). – P. 17–24.
59. Azzara, C.D. Off-flavors of dairy products. In Off-Flavors in Foods and Beverages / C.D. Azzara, L.B. Campbell // Charalambous, G., Ed.; Elsevier Science Publisheers: Amsterdam, The Netherlands. – 1992. – P. 329–374.
60. Bekbölet, M. Light effects on food / M. Bekbölet // J. Food Prod. – 1990. – Vol. 53(5). – P. 430–440.
61. Borle, F. Photo-oxidation and photoprotection of foods, with particular reference to dairy products / F.Borle, R. Sieber, J.O. Bosset // Sciences des Aliments. – 2001. – Vol. 21. – P. 571–590.
62. Cadwallader, K.R. Analysis of aroma-activated components of light activated milk. In Flavor Analysis: Developments in Isolation and 27 Characterization; ACS Symposium Series 705 / K.R. Cadwallader, C.L. Howard // American Chemical Society: Washington, DC. – 1998. – P. 343–358.
63. Dimick, P.S. Photochemical effects on flavor and nutrients of fluid milk / P.S. Dimick // Can. Inst. Food Sci. Technol. J. – 1982. – Vol. 15(4). – P. 247–256.
64. Frankel, E.N. Lipid oxidation / E.N. Frankel // Prog. Lipid Res. – 1980. – Vol. 19. – P. 1–22.
65. Frankel, E.N. Recent advances in lipid oxidation/E.N. Frankel // J. Sci. Food Agric. – 1991. – Vol. 54. – P. 495–511.
66. Min, D.B. Chemistry and reaction of singlet oxygen in foods / D.B. Min, J.M. Boff // Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Institute of Food Technologists. – 2002. – Vol. 1. – P. 58.
67. Wong, P.Y.Y. Factors influencing ultraviolet and electron beam irradiation-induced free radical damage of ascorbic acid / P.Y.Y. Wong, D.D. Kitts // Food Chemistry. – 2001. – Vol. 74. – P. 75–84.
68. deMan, J. Principles of Food Chemistry, 3 rd Edition / J. deMan // Aspen Publishing Company. Gaithersburg, MD. – 1999. – 595 p.
69. Spikes, J. Photodegradation of foods and beverages / J. Spikes // Photochemical and photobiological reviews, ed. K. C. Smith, New York: Plenum Press. – 1981. – Vol. 6. – P. 39–81.
70. Kehoe, J.J. Tryptophan-mediated denaturation of beta-lactoglobulin A by UV irradiation // J. Agric. Food Chem. – 2008. – № 12. – Vol. 56.
71. Krishnamurthy, K. Decontamination of milk and water by pulsed UV-light and infrared heating [электронный ресурс] / K. Krishnamurthy // The Pennsylvania State University. – 2006. – режим доступа: <https://etda.libraries.psu.edu/paper/7212/2481>.
72. Воздействие ультрафиолетового излучения на биологические структуры козьего молока / С. В. Симоненко [и др.] // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2010. – № 4. – С. 16.
73. Filipov, Zh. Changes in the total protein and protein fractions in cow's milk irradiated with ultraviolet rays // Vet. Med. Nauki. – 1976. – № 4. – Vol. 13.

74. Kristo, E. Effect of UV irradiation on the properties of whey protein solutions treated using a novel UV light reactor [электронный ресурс] / E. Kristo, A. Hazizaj, M. Corredig // Department of Food Sciens, University of Guelph, Canada. – Режим доступа: <http://www.icef11.org/content/papers/nfp/NFP1132.pdf>

75. Yong Sik Cho. Effect of Ultraviolet Irradiation on Molecular Properties and Immunoglobulin Production-regulating Activity of β -Lactoglobulin / Yong Sik Cho, Kyung Bin Song, and Koji Yamada // Food Sci.Biotechnol. – 2010. – Vol. 19(3). – P. 595–602.

76. Smith, W.L. Use of pulsed ultraviolet laser light for the cold pasteurization of bovine milk / W.L. Smith, M.C. Lagunas-Solar, J.S. Cullor // Journal of Food Protection. – 2002. – Vol. 65(9). – P. 1480–1482.

77. U.S. FDA. 2000b. Irradiation in the production, processing and handing of food. Code of Federal Regulations. Title 21, part 179. Federal Register. U. S. Food and Drug Administration, Washington, DC. – 2000. – Vol. 65, № 230, p.71056 – 71058. – Режим доступа: <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/98fr/112900a.pdf>.

78. Worobo, R. W. Efficacy of the CiderSure 3500 ultraviolet light unit in apple cider. Paper presented at U.S. FDA CFSAN Apple Cider Food Safety Control Workshop. – 1998. Режим доступа: <http://www.cfsan.fda.gov/~comm/cidwworo.html>.