

Міністерство освіти і науки України  
Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя

Факультет інженерії машин, споруд та технологій

Кафедра харчової біотехнології і хімії

## КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на здобуття освітнього ступеня

Магістр

(назва освітнього ступеня)

на тему: Дослідження протеолітичних властивостей лактококів  
з проектуванням цеху виробництва сичужних сирів  
на замовлення ПрАТ “Тернопільський молокозавод”

Виконав: студент 6 курсу, групи МЛМ-61  
спеціальності 181- Харчові технології

(шифр і назва спеціальності)

	<u>Величко А.В.</u> (підпис)	<u>Величко А.В.</u> (прізвище та ініціали)
Керівник	<u>Юкало В.Г.</u> (підпис)	<u>Юкало В.Г.</u> (прізвище та ініціали)
Нормоконтроль	<u>Покотило О.С.</u> (підпис)	<u>Покотило О.С.</u> (прізвище та ініціали)
Завідувач кафедри	<u>Кухтин М.Д.</u> (підпис)	<u>Кухтин М.Д.</u> (прізвище та ініціали)
Рецензент	<u>Лукіянчук Б.Я.</u> (підпис)	<u>Лукіянчук Б.Я.</u> (прізвище та ініціали)

Міністерство освіти і науки України  
Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя

Факультет інженерії машин, споруд та технологій  
(повна назва факультету)  
Кафедра харчової біотехнології і хімії  
(повна назва кафедри)

ЗАТВЕРДЖУЮ  
В.о. завідувача кафедри  
Кухтин М.Д.  
(підпис) (прізвище та ініціали)  
« » 20\_\_ р.

**ЗАВДАННЯ  
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ**

на здобуття освітнього ступеня магістр  
(назва освітнього ступеня)  
за спеціальністю 181 «Харчові технології»  
(шифр і назва спеціальності)  
студенту Величко Арсену Володимировичу  
(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Дослідження протеолітичних властивостей лактококів  
з проєктуванням цеху виробництва сичужних сирів  
на замовлення ПрАТ «Тернопільський молокозавод»

Керівник роботи Юкало В.Г., д.б.н., проф.  
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

Затверджені наказом ректора від « 13 » жовтня 2023 року № 4/7-973

2. Термін подання студентом завершеної роботи 22. 12. 2023 р.

3. Вихідні дані до роботи:

- 1) Сир Ярославський
- 2) Сир Естонський
- 3) Сир Буковинський малий
- 4) Напій з сироватки з мелісою
- 5) Напій з сироватки з цитрусом

4. Зміст роботи (перелік питань, які потрібно розробити)

Анотація. Вступ. Техніко-економічне обґрунтування.

Технологічна частина.

Науково-дослідна частина.

Охорона праці і безпека в надзвичайних ситуаціях.

Висновки. Список використаних літературних джерел.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень, слайдів)

Схема напрямів переробки сировини

Апаратурно-технологічна схема виробництва із елементами ТХК і МБК

План цеху (М1:100)

Графік організації виробничих процесів

Розріз виробничого цеху (М1:50)

Аркуші науково-дослідної роботи

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Охорона праці	к.т.н., доц. Окіпний І.Б.		
Безпека в надзвичайних ситуаціях	ст. викл. Стручок В.С..		
Технологічна частина	д.б.н., проф. Юкало В.Г.		
Науково-дослідна частина	д.б.н., проф. Юкало В.Г.		

7. Дата видачі завдання 1.09.2023 р.

**КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН**

№ з/п	Назва етапів роботи	Термін виконання етапів роботи	Примітка
1.	Проведення продуктового розрахунку	1.09.2023 р. – 10.09.2023 р.	
2.	Розрахунок та підбір технологічного обладнання	17.09.2023 р.	
3.	Розрахунок площі приміщень: виробничих і допоміжних	24.09.2023 р.	
4.	Виконання аркуша I	28.09.2023 р.	
5.	Виконання аркушів II і III	5.10.2023 р.	
6.	Виконання аркушів IV, V	15.10.2023 р.	
7.	Огляд літературних джерел згідно теми кваліфікаційної роботи	29.10.2023 р.	
8.	Опрацювання методик досліджень	10.11.2023 р.	
9.	Виконання досліджень і опрацювання результатів	30.11.2023 р.	
10.	Оформлення аркушів до науково-дослідної частини	10.12.2023 р.	
11.	Написання розділу «Охорона праці і безпека в надзвичайних ситуаціях»	15.12.2023 р.	
12.	Подача роботи до захисту	22.12.2023 р.	

Студентка

\_\_\_\_\_ (підпис)

Величко Арсен Володимирович

(прізвище та ініціали)

Керівник роботи

\_\_\_\_\_ (підпис)

Юкало Володимир Глібович

(прізвище та ініціали)

## АНОТАЦІЯ

Дана кваліфікаційна робота призначена, проєктуванням цеху виробництва сичужних сирів з дослідженням протеолітичних властивостей лактококів.

Робота складається із чотирьох основних частин: 1)техніко – економічної, 2)проєктно – технологічної, 3)науково – дослідної, 4)охорони праці та безпеки в надзвичайних ситуаціях.

У першій частині даної роботи проведено моніторинг розташування нашого молокопереробного підприємства у певному регіоні, Тернопільської області в місті Теремовля, так як дане місто має найкраще розташування до фермерських господарств.

У другій частині даної роботи проведенні всі сировинні розрахунки, а також розрахунки готового продукту. Також підібране сучасне Європейське та Українське молокопереробне обладнання та розраховані площі виробничих приміщень та цехів даного підприємства.

Третя частина даної роботи є науково – дослідною. В ній проводяться експерименти та дослідження протеолітичних властивостей лактококів при різних умовах. Також для цього зроблено детальний огляд літератури і вибрано найкращий метод проведення дослідження.

У четвертій частині даної роботи описано: відповідальність працівників за порушення законодавства про охорону праці, причини та характер забруднення повітря робочої зони, безпека роботи промислових підприємств.

У кваліфікаційній роботі є графічна частина, у якій подані креслярські рисунки (винесені у додатки).

**Ключові слова у даній роботі:** продукти з молока, сироватка з виробництва сиру, казеїнати, лактококи, протеолітичні властивості.

## ЗМІСТ

<b>АНОТАЦІЯ</b> .....	4
<b>ВСТУП</b> .....	7
<b>РОЗДІЛ 1 ТЕХНІКО – ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ПРОЕКТУ</b> .....	9
1.1 Характеристика місця розташування підприємства .....	9
1.2 Характеристика сировинної зони .....	11
1.3 Обґрунтування асортименту молочної продукції .....	12
1.4 Характеристика каналів реалізації продукції .....	13
<b>РОЗДІЛ 2 ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА</b> .....	14
2.1 Технологічні розрахунки виробництва запроєктованого асортименту ...	14
2.1.1 Таблиця вихідних даних для розрахунку продуктів .....	14
2.1.2 Схема напрямків технологічної переробки сировини .....	15
2.1.3 Сировино-продуктовий розрахунок .....	16
2.1.4 Зведена таблиця розрахунку продуктів .....	23
2.2 Вибір та обґрунтування технологічних процесів і режимів виробництва молочних продуктів .....	24
2.2.1 Вимоги до сировини, використовуваної для виробництва молочних продуктів .....	24
2.2.2 Опис загальних операцій виробництва молочних продуктів .....	30
2.2.3 Опис технології виробництва молочних продуктів запроєктованого асортименту .....	39
2.2.4 Організація технологічного і мікробіологічного контролю виробництва запроєктованого асортименту .....	41
2.3 Забезпечення технологічного процесу виробництва запроєктованого асортименту .....	45
2.3.1 Підбір технологічного обладнання .....	48
2.3.2 Розрахунок площ виробничих і допоміжних приміщень .....	55
<b>РОЗДІЛ 3 НАУКОВО-ДОСЛІДНА ЧАСТИНА ПРОЄКТУ</b> .....	59

3.1 Аналітичний огляд літератури .....	59
3.1.1 Протеїнази молочнокислих бактерій .....	61
3.1.2 Пептидази молочнокислих бактерій .....	65
3.2 Методи дослідження .....	70
3.3. Результати дослідження .....	73
3.3.1 Визначення протеолітичної активності та загальна характеристика протеїназо-позитивних штамів .....	73
3.3.2 Біохімічні властивості штамів лактококів .....	78
<b>РОЗДІЛ 4 ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ</b> .....	83
4.1 Охорона праці .....	83
4.1.1 Відповідальність працівників за порушення законодавства про охорону праці .....	83
4.1.2 Причини та характер забруднення повітря робочої зони .....	85
4.2 Безпека в надзвичайних ситуаціях .....	90
<b>ВИСНОВКИ</b> .....	92
<b>СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ</b> .....	93
<b>ДОДАТКИ</b> .....	99

## ВСТУП

**Актуальність теми роботи.** Молоко, яке використовують для сироваріння має особливі вимоги до якості. Окрім того, що воно повинно відповідати стандарту і задовольняти вимоги до сировини для молочних підприємств. Воно ще й повинно бути біологічно повноцінним, придатним для виробництва сиру, утворювати щільний згусток під дією сичужного ферменту або заквашуваних культур. Здатність до зсідання під дією сичужного ферменту або закваски – одна з найважливіших якостей молока для сироваріння. До складу різних видів заквашувальних препаратів для молочних продуктів входять **лактококи**. Їхня здатність розвиватися у молочному середовищі залежить від активності протеолітичної системи.

Тому **мета** нашої роботи: відбір протеолітичних штамів лактококів і дослідження їх біохімічних властивостей.

### **Завдання експериментальної частини:**

1. Відбір протеїназо-позитивних штамів лактококів з колекційних штамів.
2. Характеристика протеолітичної активності, специфічності та відбір протеолітично-активних штамів.
3. Характеристика біохімічних властивостей відібраних протеолітично-активних штамів.

**Об'єкт досліджень** – – протеїназо-позитивні лактококи..

**Предмет досліджень** – протеолітична активність і біохімічні властивості лактококів.

**Методи досліджень:** у кваліфікаційній роботі застосовувались визначення концентрації продуктів протеолізу при вирощуванні штаму протягом короткого періоду часу у стерильному знежиреному молоці та сучасні методи статистичного опрацювання результатів дослідження.

**Наукова новизна отриманих результатів:** на основі проведеного огляду літературних даних розроблено технологію виробництва твердих сирів та напоїв на основі молочної сироватки з екстрактом меліси та цитрусу. А також визначено

протеолітичну активність різних штамів лактококів за допомогою електрофорезу, проведено відбір протеолітично активних штамів і вивчено їх властивості.

**Практична роль здобутих результатів.** Розроблена технологія напоїв на основі молочної сироватки дозволяє розширити асортимент сироваткових напоїв, які виготовляють з молочної та рослинної сировини.

**Особистий вклад здобувача.** Здійснено пошук літературних посилань за темою кваліфікаційної роботи, проведено підбір та розрахунок технологічного обладнання, розрахунок виробничих площ для виробництва сичужних сирів та переробки сироватки, складено план експериментальної частини проєкту, проведені дослідження та опрацьовані отримані результати.

**Апробація результатів.** За результатами проведених досліджень опубліковано тези доповіді на Міжнародній науково-технічній конференції (Додаток А).

**Структура та обсяг роботи.** Робота містить анотацію, вступ, технічні та економічні обґрунтування, технологічну частину, науково-дослідну частину роботи, розділ з охорони праці та безпеки в надзвичайних ситуаціях, а також 63 літературних джерела та додатки.



# РОЗДІЛ 1 ТЕХНІКО – ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРОНТУВАННЯ ПРОЄКТУ

## 1.1 Характеристика місця розташування підприємства

Молоко сировина та молочні продукти молока відносяться до товарів з обмеженим терміном придатності. Тому вибір побудови молокопереробного підприємства вибраний таким чином щоб у ньому відповідала кількість населення. Рекомендована норма споживання сиру 4 кг/особу.

Проводимо розрахунок за формулою яка визначить норму споживання одною людиною молочної продукції.

$$Ч = \frac{П}{Н}$$

Де Ч – чисельність населення де буде розташовуватися молокопереробне підприємство тис. чол.

Де П – річна потреба в молочній продукції кг

Н – норма споживання молочної продукції

$$13515 = \frac{1460}{60}$$

Де  $П_{щ}$  - потужність цеху 24 000 т

Де  $П_{зм}$  – кількість змін 260

$$24\ 000 * 260 = 6\ 240\ 000 \text{ кг}$$

Обираємо населений пункт який знаходиться в Тернопільській області – місто Теремовля. Населення міста складає більше 15 тис. осіб. Проведемо аналіз доцільності будівництва підприємства у Теремовлі за допомогою SWOT – аналізу (таблиця 1.1).

**Таблиця 1.1** - SWOT аналіз для проєктованого підприємства по виробництву сичужних сирів та сироваткових напоїв.

Сильні сторони	Забезпечення надходження сировини із сучасних фермерських господарств. Упроваджене новітніми технологіями при виробництві та в лабораторіях для контролю та безпечності сировини, та готового якісного продукту. Широким асортиментом продукції який випускається на даному підприємстві користується попитом.
Слабкі сторони	Великі втрати на будівництво підприємства та облаштування виробничого приміщення новітнім технологічним обладнанням згідно європейських стандартів а також додаткові ресурси: енергетика, вода, тощо. Відносно висока собівартість продукту на ринку виготовлення товарів спричиняє вищу ціну на прилавках ніж у конкурентів, а також велика плинність кадрів через високу оплату праці.
Можливості	Постійна співпраця з фермерськими господарствами, а також інвестиційні внески у розвиток фермерських господарств з метою подальшої співпраці. Масштабний проєкт та швидке введення в експлуатацію даного виробничого корпусу ще більше пов'яже фермерські господарства та молокопереробні підприємства з великими планами та розбудовами на майбутнє.
Загрози	Гатунковість молока сировини в Україні, недостатня кількість ресурсів для проведення повних змін для того щоб запровадити екстра гатунок молока сировини яке би значно змінило продукти та покращило якість та безпеку молочних продуктів. Конкуренція з боку інших підприємств.

У Теробовлі як такої промисловості немає, тому будівництво даного молокопереробного підприємства буде дуже доцільним. Це означитиме, що населення та інші споживачі будуть зацікавлені у покупці даної продукції а підприємство буде реалізувати товари на експорт та імпорт в інші міста та країни у най короткіші терміни.

## **1.2. Характеристика сировинної зони**

Тернопільська область маю одну з найбільших площ більше 13 824 тис м<sup>2</sup>. В регіоні притаманний помірний клімат. Найбільшу частину займає тваринництво та аграрна промисловість. Завдяки хорошому клімату та умовам є розвиток молочно – м'ясного виробництва. Станом на зараз фермерські господарства які розташовані на території області дають більше 150 тон молока незбираного. Станом на липень 2023 року поголів'я великої рогатої худоби (ВРХ) в області складає більше 110 тис дійних корів.

Згідно статистики державної служби на сьогодні валовий надій коров'ячого молока у фермерських господарств становить на 50% більше, ніж у попередньому році. Середній надій на корову, у фермерських господарствах становить за рік 9 – 10 тон, що на 9.5 % більше ніж у 2022 році. В планах отримувати незбиране молоко від фермерських господарств регіону, зокрема, третє місце після інших міст.

Виготовлення молочних продуктів в області є дуже правильним та доцільним з тої точки зору, що є високий рівень створення соціальних умов для утримання та годівлі ВРХ. Зростання обсягів виробництва продукту здійснюється з використанням корів молочних порід, а також використовується збалансоване харчування та сучасні фермерські господарства, де корови почуваються чудово. Адже чим кращі умови догляду за коровою, тим кращу сировину (молоко) вона буде давати. Це і є запорука та головне правило молочної галузі.

### 1.3. Обґрунтування асортименту молочної продукції

Молочні продукти в харчуванні людини відіграють важливу роль і повинні постійно бути у кожного. Так твердий сир є невід'ємною частиною щоденного раціону харчування. У сирах міститься близько 3% складають мінеральні речовини, левова частка в яких належить кальцію і фосфору, також до складу входить цинк, йод, залізо, силен та калій. Не менш багатий і вітамінний ряд А, В1, В2, В12, С, D, Е, РР, патентована кислота тощо. Засвоюваність поживних речовин що містяться у сирах та у продуктах з молока до 99%.

Асортимент продукції, що планується реалізовувати та його коротка характеристика подані у таблиці 1.2.

**Таблиця 1.2** – Асортимент продукції та його характеристика.

Найменування продукту	Відсоток жиру	Нормативний документ	Характеристика продукту
Сир “Ярославський”	45%	ДСТУ 6000:2008	Поверхня чиста, рівна, покрита парафіновими, полімерними чи комбінованими сплавами або полімерними плівками. Кірка тонка, без ушкоджень і товстого підкоркового шару
Сир “Естонський”	45%	ДСТУ 4421:2005	Поверхня чиста, рівна, покрита парафіновими, полімерними чи комбінованими сплавами або полімерними плівками. Кірка тонка, без ушкоджень і товстого підкоркового шару
Сир “Буковинський”	45%	ДСТУ 6003:2008	Поверхня чиста, рівна, покрита парафіновими, полімерними чи комбінованими сплавами або полімерними плівками. Кірка

			тонка, без ушкоджень і товстого підкоркового шару
Напій з сироватки “З Мелісою”	0,36	ДСТУ 8549:2015	Напій має виражений смак екстракту меліси, приємний на запах та відповідає нормам ДСТУ
Напій з сироватки “Цитрусовий”	0,36	ДСТУ 8549:2015	Напій має виражений смак цитрусу, приємний на запах та відповідає нормам ДСТУ

#### **1.4. Характеристика каналів продаж продукції**

Канали реалізації та збуту продукції та їх характеристика наведені нижче.

##### ***Прямі канали***

Власна торгова точка – підприємство є власником таких магазинів. Ціну на продукцію встановлюється самим підприємством.

З торгівельними мережами та супермаркетами – укладається договір та торговим домом, який контролює процес реалізації. Останні встановлюють ціну на товар на власний розсуд, але згідно ринку.

##### ***Непрямі канали***

Заклади ресторанного господарства, підприємство домовляється про поставки, укладається двосторонній договір, в якому прописано терміни та вартість доставки та ціну продукту за 1 кг. Заклади самі обирають на власний розсуд як реалізувати чи перепродавати продукцію під своєю торговою маркою.

Дистриб'юторські мережі або продаж франшизи на реалізацію нашого продукту під іншими торговими марками.

## РОЗДІЛ 2 ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА ПРОЕКТУ

### 2.1. Технологічні розрахунки виробництва запроєктованого асортименту

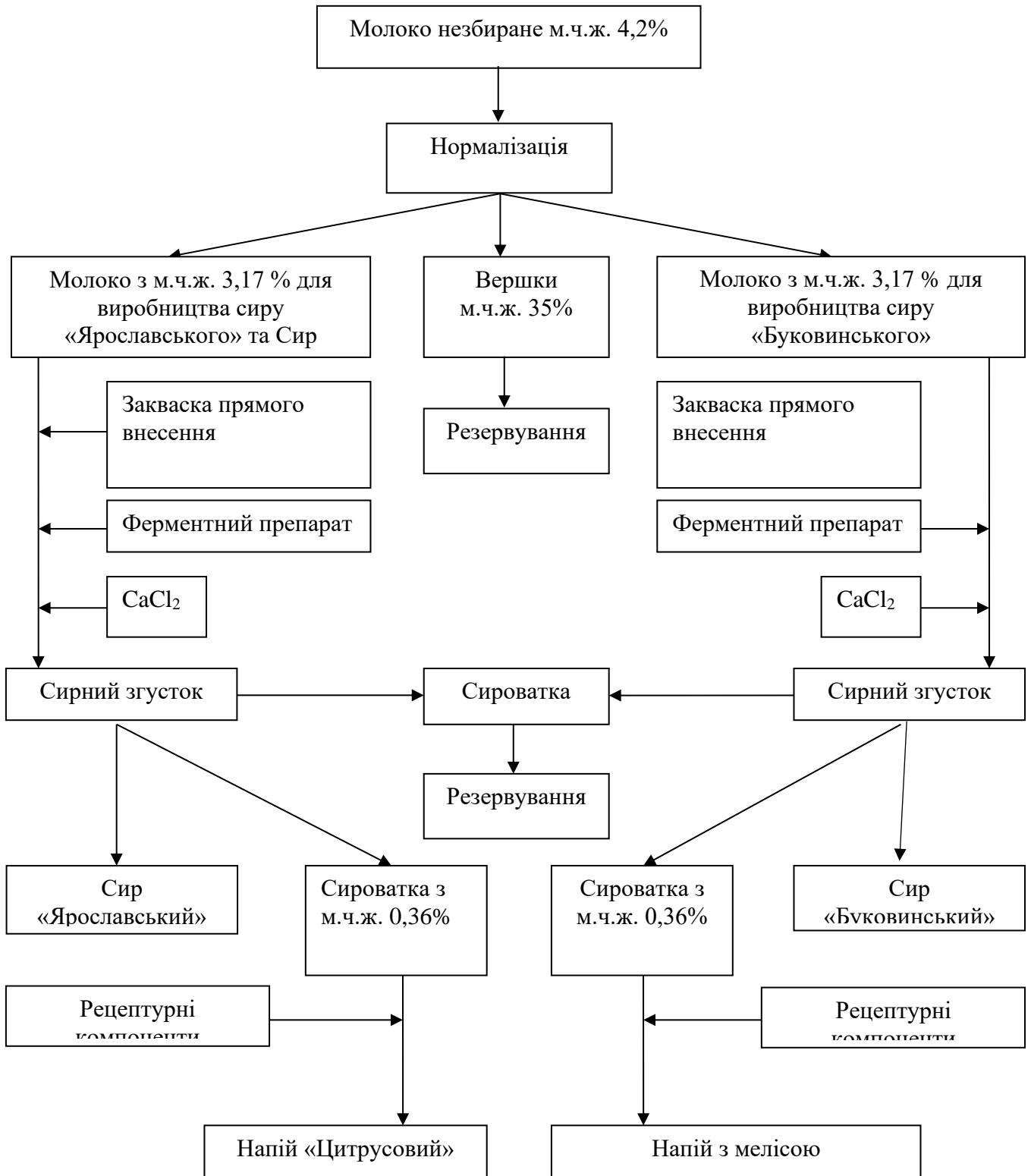
#### 2.1.1. Таблиця вихідних даних для розрахунку продуктів

Таблиця 2.1 – Вихідні дані для розрахунку продуктів

Найменування продукту	Відсоток жиру	Кількість готового продукту	Пакування	Нормативний документ
Сир Ярославський брусковий	45%	826,7	Плівка	ДСТУ 6003:2008
Сир Буковинський малий	45%	774,26	Плівка	ДСТУ 4421:2005
Сир Естонський	45%	816,32	Плівка	ДСТУ 6003:2008
Напій із сироватки цитрусовий	0.36	9637,6	Поліетиленові пакети по 500см <sup>3</sup>	ДСТУ 8549:2015
Напій із сироватки з мелісою	0.36	15250,92	Поліетиленові пакети по 500см <sup>3</sup>	ДСТУ 8549:2015

М.ч.ж. незбираного молока – 4.2 %; спосіб виробництва кисломолочних продуктів пластовий: цех працює у одну зміну.

## 2.1.2 Схема напрямів технологічної переробки сировини



### 2.1.3 Сировино – продуктивний розрахунок

#### - Розрахунок сиру «Ярославського брускового» м.ч.ж. 45%

Для виробництва даного продукту використаємо 8000 кг вихідної сировини, у якій масова частка жиру становить 4,2%. Потрібно отримати сир «Ярославський брусковий» у сухій речовині якого міститься 45% жиру. Вага однієї голови сиру – 3 кг, тривалість визрівання 60 діб. Пакування голівок сиру передбачається у плівку полімерну. Виробництво планується проводити в 1 зміну.

1) Частка білку в молоці, %, розраховуємо:

$$B_{м.} = Ж_{м.} * A + B$$

$Ж_{м.}$  – м.ч.ж. в молоці незбираному, %;

A; B – коефіцієнти визначенні експериментально;

A = 0,45; B = 1,3;

$$B_{м.} = 4,2 * 0,45 + 1,3 = 3,19\%$$

2) Для того, щоб отримати готовий продукт з визначеними показниками жиру, потрібно на його виробництво направляти суміш із необхідною його масовою часткою, %

$$Ж_{н.м.} = \frac{K * Ж_{с.р.} * B_{м.}}{100}$$

K – коефіцієнт, значення якого змінюється залежно від того який вид сиру, виготовляємо і становить для сирів з жирністю у речовині сухій 50% – 2,16;

$Ж_{с.р.}$  – м.ч.ж. у сирі, в перерахунку у сухій речовині згідно з нормативними документами.

$$Ж_{н.м.} = \frac{2,16 * 46 * 3,19}{100} = 3,17\%$$

3) Розраховуємо масу суміші та інших компонентів нормалізації, які отримаємо при сепаруванні вихідної сировини:

$$m_{н.м.} = \frac{m_{м.} * (Ж_{в.} - Ж_{н.м.})}{Ж_{в.} - Ж_{н.м.}} * \frac{100 - B}{100}$$

$m_{м.}$  – маса молока незбираного;



## Технологічні розрахунки виробництва запроєктованого асортименту

$V$  – втрати при нормалізації,  $V = 0,38$ ;

$J_{в.}$  – м.ч.ж. у вершках, %;

$J_{м.}$  – м.ч.ж. молока-сировини, %.

$$M_{н.м.} = \frac{8000 * (35 - 4,2)}{35 - 3,17} * \frac{100 - 0,38}{100} = 7711,7 \text{ кг}$$

$$m_{в.} = m_{м.} - m_{н.м.} * \frac{100 - V}{100}$$

$V$  – втрати вершків при нормалізації,  $V = 0,07$ .

$$M_{в.} = 8000 - 7711,7 * \frac{100 - 0,07}{100} = 288,1 \text{ кг}$$

4) Визначаємо масу ферменту молокозідального

$$m_{ф} = \frac{m_{н.м.} * V}{100}$$

$v$  – норма для використання ферменту,  $v = 0,0007$  кг.

$$M_{ф} = \frac{7711,7 * 0,0007}{100} = 0,054 \text{ кг}$$

5) Визначаємо масу  $\text{CaCl}_2$

$$m_{\text{CaCl}_2} = \frac{m_{н.м.} * C}{100}$$

$C$  – норма використання кухонної солі,  $C = 0,02$ кг.

$$m_{\text{CaCl}_2} = \frac{7711,7 * 0,02}{100} = 1,54 \text{ кг}$$

6) Визначаємо масу суміші

$$m_{\text{сум}} = m_{н.м.} + m_{ф} + m_{\text{CaCl}_2}$$

$$m_{\text{сум}} = 7711,7 + 0,054 + 1,54 = 7713,294 \text{ кг}$$

7) Масу сиру після визрівання обчислюємо наступним чином

$$m_{\text{сир}}^{\text{визр.}} = \frac{m_{\text{сум}}}{H_{в.}} * 1000$$

$H_{в.}$  – норма витрат молока на 1т сиру,  $H_{в.}=10120$  кг/т

$$m_{\text{сир}}^{\text{визр.}} = \frac{7713,294}{10120} * 1000 = 762,18 \text{ кг}$$

8) Маса сиру після пресування рахуємо беручи до уваги відсоток усушки в процесі визрівання

$$m_{\text{сиру}} = \frac{m_{\text{сир}}^{\text{визр.}} * 100}{100 - Y_c}$$

$Y_c$  – норма природного видалення вологи,  $Y_c = 7,8 \%$ .

$$m_{\text{сиру}} = \frac{762,18 * 100}{100 - 7,8} = 826,7 \text{ кг}$$

Після цього проводимо визначення кількості головок сиру

$$N_{\text{г.с.}} = \frac{m_{\text{сиру}}}{m_{\text{г.с.}}}$$

$m_{\text{г.с.}}$  – маса голів сиру, 4 кг.

$$N_{\text{г.с.}} = \frac{826,7}{4} = 206,7 \text{ шт.}$$

9) Під час виробництва сиру отримуємо побічний продукт – сироватку підсирну, кількість якої визначаємо за наступною формулою

$$m_{\text{сироватки}} = \frac{m_{\text{сум}} * V_{\text{сиров.}}}{100}$$

$V_{\text{сиров.}}$  – відсоток відбору сироватки  $V_{\text{сиров.}} = 80\%$ .

$$M_{\text{сироватки}} = \frac{7713,294 * 80}{100} = 6170,64 \text{ кг}$$

### **- Розрахунок сиру «Буковинський малий» м.ч.ж. 45%**

Організуємо виробництво з 8000кг молока-сировини м.ч.ж. 4,2%, сир «Буковинський» м.ч.ж. у сухій речовині 45%. Норми витрат сировини при виготовленні продукту 10120 кг/т. Маса головки сиру – 4 кг, тривалість визрівання 30 діб. Пакування передбачаємо у полімерну плівку. Виробництво здійснюється в 1 зміну.

1) Розраховуємо частку білка у незбираному молоці, %

$$4.2 * 0.45 + 1.3 = 3.19\%$$

2) Розраховуємо м.ч.ж. нормалізованої суміші, %

$$Жн. м = \frac{2.16 * 46 * 3.19}{100} = 3.17\%$$

3) Знаходимо масу нормалізованого молока та вершків, які отримуємо у процесі сепарування незбираного молока

$$m_{н.м.} = \frac{8000 * (35 - 4,2)}{35 - 3,17} * \frac{100 - 0,38}{100} = 7711,7 \text{ кг}$$

$$m_B = 8000 - 7711,7 * \frac{100 - 0,07}{100} = 288,1 \text{ кг}$$

4) Розраховуємо масу молокозсідального ферменту

$$m_{\Phi} = \frac{7711,7 * 0,0007}{100} = 0,054 \text{ кг}$$

5) Визначаємо масу  $\text{CaCl}_2$

$$m_{\text{CaCl}_2} = \frac{7711,7 * 0,02}{100} = 1,54 \text{ кг}$$

6) Визначаємо масу суміші

$$m_{\text{сум}} = 7711,7 + 0,054 + 1,54 = 7713,294 \text{ кг}$$

7) Розраховуємо масу сиру після визрівання

$N_B$  – норма витрат молока на 1т сиру,  $N_B=10120$  кг/т

$$m_{\text{сир}}^{\text{визр.}} = \frac{7713,294}{10120} * 1000 = 723,93 \text{ кг}$$

8) Визначаємо масу сиру після пресування з врахуванням усушки в процесі визрівання

$U_c$  – норма природного видалення вологи,  $U_c = 6,5 \%$ .

$$M_{\text{сиру}} = \frac{723,93 * 100}{100 - 6,5} = 774,26 \text{ кг}$$

9) Розраховуємо кількість головок сиру в штуках

$m_{г.с.}$  – маса голів сиру, 4 кг.

$$N_{г.с.} = \frac{774,26}{4} = 194 \text{ шт.}$$

10) Визначаємо масу сироватки отриманої в процесі виробництва

$V_{\text{сиров.}}$  – відсоток відбору сироватки  $V_{\text{сиров.}} = 80\%$ .

$$M_{\text{сироватки}} = \frac{7713,294 * 80}{100} = 6170,64 \text{ кг}$$

**- Розрахунок сиру “Естонського” м.ч.ж. 45%**

Для виробництва даного продукту направляємо 8000 кг вихідної сировини у якій масова частка жиру становить 4,2%. Потрібно отримати сир «Естонський» у сухій речовині якого міститься 45% жиру. Для виготовлення цього продукту витрати сировини складуть 10160 кг/т. Вага однієї головки сиру – 3 кг, тривалість визрівання 30 діб. Пакування голівок сиру передбачається у плівку полімерну. Виробництво планується проводити в 1 зміну.

- 1) Розраховуємо частку білка у незбираному молоці,%

$$4.2 * 0.45 + 1.3 = 3.19\%$$

- 2) Розраховуємо м.ч.ж. нормалізованої суміші, %

$$Ж_{н. м} = \frac{2.16 * 46 * 3.19}{100} = 3.17\%$$

- 3) Знаходимо масу нормалізованого молока та вершків, яку отримуємо у процесі сепарування незбираного молока

$$m_{н.м.} = \frac{8000 * (35 - 4,2)}{35 - 3,17} * \frac{100 - 0,38}{100} = 7711,7 \text{ кг}$$

$$m_{в} = 8000 - 7711,7 * \frac{100 - 0,07}{100} = 288,1 \text{ кг}$$

- 4) Розраховуємо масу молокозсідального ферменту

$$m_{\phi} = \frac{7711,7 * 0,0007}{100} = 0,054 \text{ кг}$$

- 5) Визначаємо масу  $\text{CaCl}_2$

$$m_{\text{CaCl}_2} = \frac{7711,7 * 0,02}{100} = 1,54 \text{ кг}$$

- 6) Визначаємо масу суміші

$$m_{\text{сум}} = 7711,7 + 0,054 + 1,54 = 7713,294 \text{ кг}$$

- 7) Розраховуємо масу сиру після визрівання

$N_{в}$  – норма витрат молока на 1т сиру,  $N_{в}=10160$  кг/т

$$m_{\text{сир}}^{\text{визр.}} = \frac{7713,294}{10160} * 1000 = 759,18 \text{ кг}$$

- 8) Визначаємо масу сиру після пресування з врахуванням усушки в процесі визрівання

$U_c$  – норма природного видалення вологи,  $U_c = 7,0\%$ .

$$M_{\text{сиру}} = \frac{759,18 * 100}{100 - 7,0} = 816,32 \text{ кг}$$

9) Розраховуємо кількість головок сиру в штуках

$m_{\text{г.с.}}$  – маса голів сиру, 7,5 кг.

$$N_{\text{г.с.}} = \frac{816,32}{3,0} = 272,0 \text{ шт.}$$

10) Визначаємо масу сироватки отриманої в процесі виробництва

$V_{\text{сиров.}}$  – відсоток відбору сироватки  $V_{\text{сиров.}} = 80\%$ .

$$M_{\text{сироватки}} = \frac{7713,294 * 80}{100} = 6170,64 \text{ кг}$$

Загальна маса сироватки становитиме:

$$m_{\text{сироватки}} = 6170,64 * 3 = 18511,92 \text{ кг}$$

Сироватку, отриману при виробництві сирів направляємо на виробництво сироваткових напоїв, розділивши загальну масу порівну між двома продуктами (9255,96 \*2).

### ***Напій на основі молочної сироватки з цитрусовим екстрактом***

Після виробництва сирів, сироватку, яку отримали в кількості 9255,96 кг, використовуємо для виготовлення напою Цитрусового.

**Таблиця 2.2** – Рецепт для виготовлення напою [4]

Рецептурні компоненти	Маса компон. на 1 т готової продукції, кг		Маса фактична, кг
	без втрат	із втратами	
Сироватка	949,5	960,4	9255,96
Цукор	50	50,575	487,42
Ароматизатор лимона	0,5	0,5	4,82
Барвник лимона	0,01	0,01	0,096
Всього	1000	1011,5	9748,44

Норми витрат складають  $H = 1011,5$  кг/т.

Розрахунок сироваткового напою після розливу:

$$m_{г.п.} = \frac{9748,44 * 1000}{1011,5} = 9637,6 \text{ кг};$$

Отже, маса готового продукту складе 9637,6 кг.

### *Напій на основі молочної сироватки з екстрактом меліси*

Після виробництва сирів, сироватку, яку отримали в кількості 9255,96 кг, використовуємо для виготовлення напою з екстрактом меліси.

**Таблиця 2.3** – Рецептатура для виготовлення напою [4]

Рецептурні компоненти	Маса компон. На 1 т готової продукції, кг		Маса фактична, кг
	без втрат	із втратами	
Сироватка	600	606,9	9255,96
Сік манго	160	161,84	2468,2
Цукровий сироп	105	106,20	1619,6
Екстракт меліси	135	136,55	2082,55
Всього	1000	1011,5	15426,31

Норми витрат складають  $H=1011,5$  кг/т.

Розрахунок сироваткового напою з екстрактом меліси після розливу:

$$m_{г.п.} = \frac{15426,31 * 1000}{1011,5} = 15250,92 \text{ кг};$$

Отже, маса готової продукції складає 15250,92 кг

## 2.1.4 Зведена таблиця розрахунку продуктів

Таблиця 2.4 - Зведена таблиця розрахунку продуктів

Назва продукту	Сир Ярославський	Сир буковинський	Сир естонський	Напій цитрусовий	Напій з мелісою	Всього
Маса готового продукту	826,7	774,26	816,32	9637,6	15250,92	-
Маса молока незбираного 4.2%	8000	8000	8000	-	-	24000
Молоко м.ч.ж 3.17%	7711,7	7711,7	7711,7	-	-	23135,1
CaCl <sub>2</sub>	1.54	1.54	1.54	-	-	4,62
Зсідальний фермент	0,054	0,054	0,054	-	-	0,162
Сироватка 0.36%	-	-	-	9255,96	9255,96	18511,92
Вершки м.ч.ж 0.35%	288,1	288,1	288,1	-	-	864,3
Ароматизатор лимона	-	-	-	4,82	-	4,82
Сік манго	-	-	-	-	2468,2	2468,2
Цукровий сироп	-	-	-	-	1619,6	1619,6
Барвник лимона	-	-	-	0,096	-	0,096
Екстракт меліси	-	-	-	-	2082,55	2082,55

## 2.2 Вибір та обґрунтування технологічних процесів і режимів виробництва молочних продуктів

### 2.2.1 Вимоги до сировини, яка використовується для виробництва молочних продуктів

При виробництві сичужних сирів використовують таку сировину і матеріали:

- молочну сировину, що відповідає вимогам ДСТУ 3662:2018;
- молоко зсідальні препарати: пепсин харчовий яловичий, порошок сичужний або інші фермент і препарати;
- бактеріальні препарати;
- мінеральні речовини: кальцій хлористий зневоднений, кальцій хлористий фармакопейний;
- сіль кухонна не нижче першого гатунку, нейодована, для соління сиру в зерні – сорту «Екстра»;
- калій та натрій азотнокислі барвники: екстракт анато,  $\beta$ -каротин водорозчинний;
- прянощі (паприка червона або зелена, перець червоний мелений, перець чилі, кріп сушений та ін.).

#### **Вимоги до молока-сировини**

Вирішальним фактором у виробництві сирів є хімічний склад, фізичні властивості та мікро-біологічні показники молока, що переробляється. Ці фактори визначають сиропридатність молока, тобто його здатність до згортання; утворенню згустку необхідної щільності; бродіння і створення середовища, необхідного для розвитку та діяльності корисних мікроорганізмів і насамперед молочнокислих бактерій.

Сиропридатність залежить не тільки від складу і властивостей молока, від особливостей технології сирів, для виробництва яких вони використовуються. Тому, говорячи про сиропридатність молока, мають на увазі молоко, яке призначене для вироблення твердих сичужних сирів. Придатність молока для



виготовлення сиру залежить від умов утримання корів на молочних фермах. Окрім того, необхідно, щоб молоко від хворих корів, які пройшли лікування антибіотиками, не потрапляти на сироваріння. Найбільш поширених хвороба серед корів – це мастит, молоко від таких корів непридатне для перероблення, так як містить кількість соматичних клітин. Незначне домішування маститного молока призводить до відчутного погіршення якості сиру та втрати білка. Кількість соматичних клітин у молоці, як основний показник наявності маститного молока, не повинна перевищувати 500 тис. КУО в 1 см<sup>3</sup>. Годівля тварин кормами низької якості також може суттєво погіршити якість сирів. За фізико-хімічними та гігієнічними показниками, біологічними властивостями МОЛОКО ДЛЯ ВИГОТОВЛЕННЯ СИЧУЖНИХ СИРІВ ПОВИННО ВІДПОВІДАТИ ТАКИМ ВИМОГАМ:

- ступінь чистоти за еталоном – не нижче першої групи;
- густина – не менше 1027 кг/м<sup>3</sup>;
- титрована кислотність – не менше 16 °Т, але не більше 18°Т;
- температура – не вище 10°С;
- редуцтазна проба – I і II класу;
- кількість спор мезофільних анаеробних лактозброджувальних
- маслянокислих бактерій в 1 см<sup>3</sup> молока – не більше 10 спор;
- вміст жиру не менше 3,2%,
- вміст білку не менше 3,0%.

Особливу увагу у сиро-виготовленні приділяють наявності у молоці газоутворювальних бактерій (масляно кислих та бактерій групі кишкової палички), тому що перші провокують пізнє спучування сирів, а другі – раннє. Погіршення якості молока може відбуватися через тривале зберігання сиру головками в умовах приймальних відділень (понад 6 год при низьких температурах).

### **Ферментні препарати**

Коагуляція білків молока – це один із найважливіших процесів під час виробництва сичужних сирів. Його здійснюють як правило під дією сичужного ферменту або інших аналогічних ферментів, при цьому відбувається зміщення і зо електричної точки казеїну з рН 4,6...4,7 до 5,0...5,2. Швидкість утворення

сирного згустку має визначальний вплив на формування структури, консистенції, малюнку та інших показників готового продукту.

Для сироваріння рекомендовано використовувати ферменти, які швидко руйнують зв'язок між гідрофобною і гідрофільною частинами казеїну та не чинить негативного впливу на вихід і органолептичні показники сиру. Ферменти, що відповідають цим вимогам, називаються «молоко зсідальними ферментами». Сичужний фермент отримують із четвертого відділу шлуночків (сичугів) молодих телят віком 2...3 тижні. Сичуг зі шлунку телят молочного віку містить 88...94% хімозину та 6...12% пепсину. У сичузі з дорослої тварини вміст цих ферментів має практично зворотну пропорцію. Оскільки сичужний фермент має дуже високу вартість, у всьому світі він застосовується у першу чергу для елітних сирів. Хімозин – це фермент, що найкращим способом викликає згортання білків молока, тоді як пепсин викликає формування у сирах гіркої присмаку. За одиницею сичужної активності (RU) приймають кількість см<sup>3</sup> молока, яку згортає фермент протягом 40 хв при температурі 35 °С. Так, одна частина сичужного ферменту може викликати коагуляцію 10 000...15 000 частин молока протягом 40 хв при температурі 35°С.

Процес сичужної коагуляції білка проходить поетапно. На першому етапі фермент має таку гідрофільну частину пептидного ланцюга  $\chi$ -казеїну та відщеплює гідрофільний макро пептид, що швидко розчинюється у сироватці. Цей процес супроводжується підвищенням гідрофобності утвореного пара- $\chi$ -казеїну, який на другому етапі процесу осаджується (флокулює) в присутності іонів кальцію та утворює коагулят, який захоплює у свою сітку усі складові компоненти молока та поступово ущільнюється. Приєднання іонів Ca<sup>2+</sup> відбувається через «кальцієві містки», які утворюються за рахунок функціональних груп - (ОН), що з'являються внаслідок дії сичужного ферменту.

Згортання молока дозволяє отримати згусток, що розділяється після відповідної обробки на дві фази: тверду, в якій містяться переважно казеїн і жир, і рідку, яка містить розчинені у воді речовини молока (молочний цукор, розчинні білки і солі молока). Під час виробництва сиру вагоме значення відіграє міцність

отриманого згустку, яка є умовою, що визначає вихід сиру, його консистенцію і відхід жиру в сироватку. Слабкий згусток дробиться нерівномірно, утворюється багато дрібних частинок сирного пилю, які втрачаються з сироваткою. Якість сичужного згустку, насамперед, характеризується механічними показниками: твердістю, пружністю, еластичністю, пластичністю, в'язкістю. Щільність згустку залежить від вмісту в молоці казеїну, ступеня зрілості молока, температури згортання, додавання солей кальцію і не залежить від дози сичужного ферменту. Тривалість сичужного зсідання молока в залежності від виду сиру становить 25...60 хв і залежить від:

- температури згортання;
- кислотності середовища;
- концентрації солей кальцію;
- дози ферменту;

Оптимальна температура для дії сичужного ферменту – 43...45 °С, а для пепсину – 40...41 °С. Температуру сичужного зсідання встановлюють 28...35 °С, що пояснюється необхідністю створення сприятливих умов не тільки для дії ферменту, а й для розвитку молочнокислої мікрофлори закваски. При нормальній кислотності (кислотність 20°Т) жирності суміші температуру згортання рекомендовано встановлювати 32...35 °С. Швидкість коагуляції казеїну залежить кількості сичужного ферменту, який додається. Встановлено, що тривалість утворення згустку є у зворотній залежності від дози ферменту.

### **Бактеріальні закваски та бактеріальні препарати**

При виробленні сичужних сирів молочний згусток утворюється під дією молока зсідальних ферментів, однак важливе значення має також і мікрофлора закваски. Мікрофлора заквасок складається зі спеціально відібраних видів молочнокислих бактерій, які вносять у молоко після пастеризації, у якому зруйновано більшу частину природньої мікрофлори молока.

Мікрофлора заквашуваних препаратів виконує такі функції:

- спільно з молоко зсідальними ферментами трансформує основні компоненти молока в такі, що визначають органолептичні характеристики сиру;

- обмежує або пригнічує розмноження мікрофлори, здатної погіршувати показники якості і безпеки сиру;
- створює умови в сирі, що забезпечує трансформацію основних компонентів молока в потрібному напрямку;
- прискорює синерезис сичужного згустку, підвищуючи його кислотність.

Мікрофлора заквасок повинна володіти такими властивостями:

- зброджувати вуглеводи і цитрати молока з оптимальною швидкістю і утворенням потрібних продуктів бродіння;
- володіти протеолітичної і ліполітичною активністю, оскільки смакові і ароматичні з'єднання сирів в основному утворюються в результаті ферментного розщеплення білків і ліпідів молока;
- не викликати вад сиру;
- зберігати свої властивості протягом встановлених строків зберігання та застосування в регламентованих нормативною документацією умовах;
- не містити сторонніх бактерій і бактеріофагів.

Заквашувані препарати підбирають з врахуванням заданого технічного ефекту. Найчастіше у сирі виготовленні застосовують закваски з 3...4 штамів. Кожен штам відіграє свою роль у формуванні органолептичних властивостей готового сиру. Саме закваски надають сиру специфічного смаку, аромату, забезпечують швидкість визрівання та консистенцію молока готового продукту. Внаслідок життєдіяльності молочнокислої мікрофлори молочний білок – казеїн – розщеплюється на амінокислоти. Комбінації різних за смаком амінокислот (солодкі, гіркі) та їх кількісні співвідношення визначають органолептичні властивості сирів.

Найчастіше застосовують змішані симбіотичні багато штамові культури мезофільних та термофільних бактерій, що забезпечує продукування молочної кислоти, аромат утворювальних сполук та вуглекислого газу. Двоокис вуглецю є фактором утворення пустот у сирі у вигляді округлих вічок та гранул. Утворений газ спочатку розчиняється у водній фазі сиру, а коли розчин стає

насиченим, газ вивільняється та утворює вічка.

#### Найбільш цінні характеристики заквасок:

- здатність утворювати молочну кислоту;
- розщеплювати білок;
- утворювати двоокис вуглецю (за необхідністю).

Іноді активність заквасочних культур знижується, що спричинено, як правило, наявністю у молоці антибіотиків або миючих розчинів, або бактеріофагів.

#### **Хімічні та біологічні компоненти**

При тепловому обробленні молока частина солей кальцію може переходити із розчинного в нерозчинний стан, що погіршує сичужне зсідання молока і характер згустку. Саме тому у нормалізовану суміш додають 40%-й розчин хлористого кальцію із розрахунку від 10 до 40 г зневодненої солі на 100кг молока. Зменшення дози солі до 10-15 г на 100 кг молока можливе при застосуванні зрілого молока. Наявність хлориду кальцію скорочує тривалість коагуляції білка, сприяє зміцненню згустку та зменшенню втрат казеїну. Оптимальну дозу хлористого кальцію встановлюють залежно від властивостей молока з урахуванням показників приладу для сичужної проби і характеристик згустків, отриманих під час попередніх виробів сирів.

Надлишковий вміст хлориду кальцію може занадто зміцнити коагулят, що призведе до ускладнення розрізання згустку та до утворення гіркоти у сирі. Зменшуючи норми хлориду кальцію, часто одержують нееластичний згусток. Розчин хлориду кальцію готують на воді з температурою 80-90°C з розрахунку 1,5 дм<sup>3</sup> на 1кг солі не менше, ніж на добу до застосування з подальшим відстоюванням. Застосовувати суху сіль або її не відстояний свіжий розчин не рекомендовано до споживання у продукт.

Для коригування сезонних варіювань кольору сиру в молоко перед визріванням або після досягнення ним температури сичужного зсідання додають барвники: β-каротин та на ту кількість 600мг/кг. Провітамін А(β-каротин) одержують в основному за рахунок мікробного синтезу, а каротиноїд ний

барвник аннато екстрагують з насіння тропічного куща *Bixa orellana*. Натуральні барвники на основі аннато мають певні переваги: серед них є водо- та жиророзчинні форми барвників, вони мають гарну термостійкість, достатню стійкість до світла та окиснення, надають продукту жовтувато-помаранчевого відтінку, але вони нестійкі при низьких значеннях рН. Саме тому розроблені спеціальні кисло-стійкі форми цього барвника. Хлорофіл застосовують також для забарвлення деяких сирів з присмаком різних трав. Барвники перед внесенням у молоко обов'язково розбавляють та рівномірно розподіляють у всій масі вимішуванням. Природні ароматичні речовини, наприклад, прянощі можна вносити для ароматизації у малих кількостях за умови, що їх внесення не здійснюється з метою заміни однієї із складових частинок молока і що сир залишається основним елементом продукту.

### **2.2.2 Опис загальних технологічних операцій виготовлення сичужних сирів**

Процес виробництва сичужних сирів складається з таких загальних технологічних операцій: приймання молока (визначення його кількості, контроль якості); очищення, термізація, охолодження сирю придатної сировини; резервування сирю придатної сировини при температурі  $(6 \pm 2)^\circ\text{C}$  не більше 24 год після доїння; визрівання сирю придатної сировини при температурі  $8 - 12^\circ\text{C}$  протягом 10 - 14 год з внесенням або без внесення закваски/заквашуваного препарату; нормалізація сирю придатної сировини до заданого співвідношення білок/жир; пастеризація при температурі  $72 - 76^\circ\text{C}$  протягом 15-20 с.

Зберігання молока при низьких температурах викликає погіршення його якості. Встановлено, що вже через 24 години зберігання молока при температурі  $5^\circ\text{C}$  близько 25% кальцію випадає в осад у вигляді фосфату. Але найгіршим наслідком є те, що стороння мікрофлора пристосовується до цих умов, а її ферментним (протеїнази та ліпази) розщеплюють білок та жири. Практикується перед пастеризацією молока проводити термізацію – помірне теплове оброблення при  $65^\circ\text{C}$  протягом 15 с з подальшим охолодженням до  $4^\circ\text{C}$ .

При виробництві сиру сичужного очищення молока незбираного доцільно проводити як від механічних домішок, так і від мікроорганізмів. З цією метою на підприємстві сироробної галузі використовують як сепаратори - молоко очисники, так і сепаратори - бактофуги. Визрівання проводять з метою покращення технологічних властивостей молока. Свіже незбиране молоко має бактерицидні властивості і не придатне для сироваріння, оскільки є не сприятливим середовищем для розвитку мікроорганізмів, погано згортається під дією сичужного ферменту, утворює погано відокремлюючи сироватку згусток.

Сутність визрівання молока полягає у поліпшенні його як середовища для розвитку мікрофлори заквасок і молоко зсідальних ферментів при незначному підвищенні титрованої кислотності молока на 1...2 °Т. Оптимальним режимом визрівання вважається витримування молока у резервуарах при температурі (10 ± 2)°С протягом (13 ± 2) годин з додаванням або без додавання закваски молочно - кислих бактерій. Нормалізація молока необхідна для виробництва стандартних за фізико - хімічними показниками сирів. Вважають, що оптимальним співвідношенням між СЗМЗ та жиром є від 1:0,36 до 1:0,47. У сироробній галузі нормалізацію молока проводять за масовою часткою жиру з урахуванням масової частки білка в молоці при використанні сепараторів - нормалізаторів або сепараторів вершко-відділювачів.

Теплове оброблення молока проводять для знешкодження технічно шкідливої для сиру виготовлення і патогенної мікрофлори, а також технологічно небажаних ферментних систем. Оптимальним режимом пастеризації молока сирого вважається його нагрівання до температури 72...73 °С з витримуванням протягом 15...20 с.

У сиру виготовленні молоко, як правило, не гомогенізують за умови виготовлення сирів з натурального, а невідновленого молока, адже гомогенізація сприяє утворенню нестійких білкових агрегатів, які важко входять до структури згустку та значно підвищують здатність сирного зерна до утримання вологи. Знизити негативний вплив гомогенізації на білки молока можна шляхом гомогенізації лише вершків з подальшим їх використанням для нормалізації

знежиреного молока. Діапазон тиску гомогенізації зазвичай складає від 7 до 10 МПа при температурі близько 65...69 °С. Гомогенізацію рекомендовано проводити перед пастеризацією.

Підготовка молока до зсідання полягає у:

- внесенні хлористого кальцію (10...40 г безводної солі на 100 кг молока);
- внесенні азотнокислих солей;
- внесенні бактеріальних заквасок;
- внесенні барвника (за необхідності);
- нагріванні до температури зсідання (28...35°C).

У процесі теплового оброблення молока (термізації та пастеризації) частина солей кальцію може переходити із розчинного в нерозчинний стан. Цей перехід супроводжується погіршенням сичужного зсідання молока і отриманням надто ніжного за консистенцією згустку. З метою усунення цих негативних явищ у нормалізовану суміш. Додають розчин хлористого кальцію із розрахунку від 10 до 40 грам зневодненої солі на 100 кг молока. Наявність хлориду кальцію скорочує тривалість сичужного зсідання. Надлишковий вміст хлориду кальцію може занадто зміцнити коагулят, що призведе до ускладнення процесу розрізання згустку. Якщо ж хлориду кальцію менше за норму, то часто спостерігається формування нееластичного згустку.

Із метою пригнічення розвитку шкідливої мікрофлори (бактерії групи кишкової палички та маслянокислих бактерій) в молоко дозволено вносити розчини азотистих солей (натрію або калію азотнокислого) із розрахунку (20 ± 10) г сухої солі на кожні 100 кг молока. Залежно від виду сиру необхідна доза бактеріальної закваски, що додається в нормалізовану суміш, становить від 0,5 до 2,5%. Закваску вносять у молоко при температурі 28...30°C під час заповнення ванн або сиру виготовлювача. Закваску вносять у молоко в потоці на початку заповнення ємностей з метою рівномірного розподілу мікроорганізмів закваски та для збільшення часу попереднього визрівання молока. Більш точну дозу закваски вибирають залежно від виду сиру, швидкості наростання кислотності сироватки та швидкості обсушування сирного зерна, ступеня



зрілості і фізико-хімічних показників вихідної сировини.

Ферментний препарат вносять у молоко у вигляді розчину, який щоразу готують за 20...30 хв до застосування. Для цього необхідну кількість ферментного препарату розчиняють у пастеризованій при температурі ненижче 85°C та охоложені до температури близько 34°C воді в розрахунку 2,5г препарату на 100...200 см<sup>3</sup> води. Після внесення розчину ферменту молоко вимішують протягом 4...6 хв та залишають у спокої наступні 8...10 хв. Доза молока зсідального препарату залежить від кислотності молока, фракційного складу білків та інших факторів, що обумовлюють швидкість утворення згустку, і змінюються протягом року. Підвищена доза молока зсідального препарату може викликати надмірне прискорення технологічного процесу порушення нормальної обсушки зерна. При недостатньому внесенні препарату або його нерівномірному розподілі в молоці збільшується тривалість згортання і обробки зерна, підвищуються втрати жиру і білка.

Тривалість зсідання молока під час виробництва більшості твердих сичужних сирів повинна становити (30±5) хв, сирів із зниженою масовою часткою жиру, у сухій речовині – (35±5) хв, а для м'яких сирів – від 30 до 90 хв. Температуру зсідання молока встановлюють в межах 28...35°C в залежності від виду сиру, пори року і технологічних властивостей молока, головним з яких є знижена або підвищена здатність його до згортання під дією молока зсідального препарату. При зниженій здатності молока до зсідання температуру підвищують в допустимих для кожного виду сиру межах. Підвищення температури сприяє прискоренню агрегування білкових частинок, збільшенню міцності згустку, прискоренню обсушки сирного зерна до початку другого нагрівання. Зниження температури згортання застосовують при переробленні молока підвищеної зрілості і кислотності для гальмування розвитку молочнокислого процесу.

Метою оброблення сирного згустку є отримання сирного зерна та створення умов для мікробіологічних і ферментативних процесів, необхідних для виготовлення сиру. Це досягається частковим зневодненням згустку. Ступінь і швидкість виділення сироватки при обробленні згустку залежить від

складу молока, його кислотності, режимів попередньої обробки. З метою прискорення виділення сироватки інтенсифікації молочнокислого процесу, збільшення обсягу мікрофлори та підвищення кислотності сирної маси згусток подрібнюють, вмішують (обробляють) і проводять друге нагрівання сирного зерна.

Технологічні операції проводять у такій послідовності:

- розрізання згустку;
- постановка сирного зерна;
- відбір сироватки;
- вимішування сирного зерна;
- нагрівання;
- обсушка (вимішування) сирного зерна.

Розрізання згустку здійснюють за допомогою різально-вимішувальних пристроїв, швидкість руху яких регулюється залежно від структурно-механічних властивостей згустку. Готовність згустку до розрізання випробовують шляхом його розрізання шпателем та оцінкою якості розрізаних країв й відділеної сироватки при підніманні розрізаного згустку. Розрізані краї повинні бути чіткими та чистими, а сироватка – зеленуватою та прозорою. На пружність та еластичність згустку впливають:

- якість сичужного ферменту;
- температура;
- наявність солей кальцію;
- значення активної кислотності.

Згусток розрізають на шматочки кубічної форми з розмірами по ребру 3...15 мм. Після розрізання згустку зерно слід обережно вимішувати з метою запобігання його руйнування, але при цьому не можна допускати осідання зерна на дно ванни. Перемішування зерна інтенсифікує відділення із нього сироватки. У процесі постановки сирного зерна відкачують приблизно 30%, а іноді і до 50% сироватки від загальної кількості перероблювального молока. Показником нормальної постановки зерна вважається його однорідність за розмірами.

Основна частина зерна після постановки повинна мати такі розміри:

- для сирів з високою температурою другого нагрівання –  $(6\pm 1)$  мм;
- для сирів з низькою температурою другого нагрівання –  $(8\pm 1)$  мм.

Чим менше зерно, тим більша його питома поверхня і швидше виділяється з нього сироватка.

Тривалість розрізання згустку і постановки зерна складає в середньому:

- для сирів з високою температурою другого нагрівання –  $(20\pm 5)$  хв;
- для сирів з низькою температурою другого нагрівання –  $(15\pm 5)$  хв;

Після проведення постановки зерно вимішують, щоб підвищити кислотність. Тривалість вимішування залежить від швидкості зневоднення сирного зерна та розвитку молочнокислого процесу і визначається ступенем ущільнення структури зерна і нарощенням титрованої кислотності сироватки. Загальна тривалість вимішування складає в середньому для сирів: з високою температурою другого нагрівання –  $(40\pm 10)$  хв, з низькою температурою другого нагрівання –  $(15\pm 10)$  хв. Під час виробництва твердих сирів для хорошого зневоднення сирної маси процесів розрізання, дроблення та підвищення кислотності є недостатньо, тому проводять операцію другого нагрівання. Окрім пригнічення розвитку кисло – утворювальних мікроорганізмів теплове оброблення спричинює стискання зерен, що супроводжується інтенсивним відділенням сироватки. Залежно від температури другого нагрівання сири поділяють на дві групи:

- з низькою температурою другого нагрівання  $(38...42^{\circ}\text{C})$ ;
- з високою температурою другого нагрівання  $(59...60^{\circ}\text{C})$ ;

Тривалість другого нагрівання для сирів становить відповідно  $(25\pm 5)$  хв та  $(15\pm 5)$  хв. Часткове соління сиру в зерні проводять під час другого нагрівання або відразу після його закінчення. Дана операція сприяє підвищенню масової вологи в сирі та дещо стимулює підвищення активної кислотності сиру за рахунок інтенсифікації молочнокислого процесу. Доза харчової солі, що використовується становить 200-300 кг на 100 кг молока.

Вимішування сирного зерна після другого нагрівання називається

обсушуванням. Його проводять для подальшого зневоднення зерна з метою отримання сиру після пресування з необхідної масової частки вологи.

**Формування сиру** – це сукупність технологічних операцій, направлених на процес відділення сирного зерна від сироватки та утворення із зерна головки сиру необхідної форми, розміру та маси. У промислових умовах використовують три способи формування сиру: з пласта, насипом і наливом. Вибір способу в основному визначається вимогами до структури і рисунку сиру. Форми можуть бути циліндричними та паралелепіпідними. Їх виготовляють перфорованими з нержавіючої сталі, алюмінієвого сплаву, полімерних матеріалів. При механізації процесу формування застосовують мульти форми, тобто сукупність форм, які групують під розподільним чаном та встановлюють під отвором ванн.

Само пресування – це процес витримування сирної маси у формувальних пристроях або формах без накладання додаткового тиску, під час якого сирна маса ущільнюється під дією власної ваги. Швидкість процесу зневоднення під час само пресування визначається в основному температурою і кислотністю середовища. Тривалість залежить від виду сиру, технологічних особливостей виробництва сирної маси, технологічного обладнання і може коливатися від 20хв до кількох годин. Пресування сиру проводять з метою ущільнення сирної маси, видалення залишків сироватки, надання сиру форми та утворення поверхневої кірки під дією зовнішнього навантаження. Пресування рекомендовано проводити спочатку повільно, щоб запобігти блокуванню вологи усередині сирної маси. Після само пресування і пресування сир зважують і подають у соляне відділення. Соління сиру – це витримування його в розчині кухонної солі заданої концентрації або нанесення солі на поверхню головки сиру. Метою соління є регулювання мікробіологічних та ферментативних процесів у сирі під час визрівання, а також надання сиру відповідного смаку.

Найбільш розповсюдженим способом є соління в розсолі, адже він дає можливість проводити процес для великих партій сирів з низькими витратами солі та рівномірно просолювати усю сирну масу. При солінні в розсолі витрати солі становлять 3-4 кг/100 кг сиру, при сухому – втрати приблизно в двічі більші.

Соління сиру рекомендовано проводити у розсолі концентрацією 18...24%. Чим вищий вміст солі, тим інтенсивніше проходить процес зневоднення сиру за рахунок різниці осмотичного тиску усередині та зовні сиру. Концентрація розсолу нижче 18% не допускається. Температуру розсолу підтримують у межах 8...14°C. Окрім розчинення солі до необхідної концентрації слід відрегулювати значення рН розсолу до 5,2...5,3 за допомогою харчової соляної кислоти або молочної кислоти. Соління проводять в основному у спеціальних солильних басейнах з розсолом, що знаходиться у холодному приміщенні при температурі 12...14°C. Соління може проводитися двома способами: солінням головок сиру у вільно плаваючому стані та зануренням їх у контейнерах. Після соління сир обсушують на стелажах в солильному приміщенні протягом 2...3 доби при температурі 10°C. Вміст солі у сирі складає близько 0,5...2,5%.

**Визрівання сиру** – це складний комплекс мікробіологічних, біохімічних фізико-хімічних процесів, що протікають в сирній масі. Цей процес є комбінованим протеолітичним процесом, коли первісні ферменти молока та бактерій закваски разом із сичужним ферментом викликають розщеплення білка. Білки під дією сичужного ферменту й протеолітичних ферментів бактерій і мікроскопічних грибів перетворюються в різноманітні азотисті з'єднання, що формують структуру, консистенцію, а також смак і аромат сиру. Молочний цукор повністю зброджується ферментами молочнокислих бактерій з утворенням молочної кислоти й інших продуктів. Жир і фосфоліпиди розщеплюються ліпазами зі звільненням жирних кислот.

Тривалість визрівання та необхідна температура і вологість повітря в камері визрівання сиру наведені в технологічних інструкціях на виробництво окремих видів сирів. Сири пакують у полімерні плівки, пакети, плівки багатошарові для вакуумного пакування, покривають парафіном або іншими сплавами для покриття сирів. Можливе покриття без вакууму, під вакуумом або в середовищі нейтральних газів: вуглекислого газу, азоту або газової суміші. Сири, що досягли кондиційної зрілості перед відправленням із заводу попередньо розсортовують за видами, датами виробництва, номерами варіння і

оцінюють за якістю. Фасовані сири дозволено реалізовувати у вигляді брусків, секторів, скибочок, нарізкою у полімерні плівки, пакети або інші пакувальні матеріали. Маса нетто для головки сиру повинна становити не більше, ніж 15 кг, а для фасованих сирів– 25-1000г.

Сири зберігають у холодильниках, холодильних камерах або у спеціальних приміщеннях. Сир фасований, упакований у полімерну плівку під вакуумом або в середовищі інертного газу, зберігають при відносній вологості повітря  $(85\pm 5)\%$  і температурі  $-4 - 6^{\circ}\text{C}$  не більше 60 діб. Сир фасований, упакований без вакууму, зберігають при відносній вологості повітря  $(75\pm 5)\%$  і температурі  $0-5^{\circ}\text{C}$  не більше 8 діб. Сири у головках зберігають при відносній вологості повітря  $(85\pm 5)\%$  і температурі  $-2 - 5^{\circ}\text{C}$  не більше 8 місяців, при  $0-8^{\circ}\text{C}$  – не більше 5 місяців. Зберігати та транспортувати сири разом із продуктами, що мають специфічний запах, не дозволено.



*Рисунок 2.1. Загальні операції виготовлення напою з сироватки*

**Відбір сироватки.** Сироватку для напою «Цитрусового» отримуємо з виробництва сиру «Естонського», і направляємо сироватку для виготовлення напою з Мелісою, після чого направляємо на тимчасове резервування перед подальшим використанням у технологічному процесі. Під час тимчасового резервування проводять контроль кислотності сироватки та температури.

**Очищення сироватки.** Очищення сироватки проводимо на сепараторах для освітлення сироватки. Освітлення сироватки – це процес відділення сирного пилу від сироватки під дією відцентрованої сили.

**Пастеризація освітленої сироватки.** Пастеризацію сироватки проводять для інактивації ферментних препаратів та знищення небажаних мікроорганізмів при виробництві напоїв.

**Фасування.** Фасування сироваткових напоїв здійснюють у стерильних умовах на фасувально-упакувальній установці у поліетиленові пакети об'ємом 0,5 л. Під час фасування на пакет наносять маркування із терміном придатності напою та температурним режимом зберігання.

**Зберігання.** Зберігають готову продукцію перед реалізацією у камері зберігання при відносній вологості 85% та температури 8°C. Термін придатності напоїв із сироватки складає не більше 36 годин.

### **2.2.3. Опис технології виробництва молочних продуктів запроєктованого асортименту**

Сири - це концентровані білкові продукти, які отримують створенням молока, обробкою згустку з наступним дозріванням сирної суміші. За свої високі смакові якості сир здавна вважався одним з найсмачніших і найцінніших продуктів харчування. До складу сиру входять необхідні людині білки, жири, мінеральні солі, мікроелементи, вітаміни. Найбільший інтерес серед складових частин сиру з погляду харчової цінності представляють білки, кальцій, фосфор, вітаміни B<sub>2</sub>, A, E та D.

Молоко на підприємство поступає з фермерських господарств, які дотримуються усіх норм та вимог ДСТУ 3662:2018 “Молоко коров'яче незбиране”. Вимоги при закупівлі, Підготовка молока до резервування та подальшої переробки у ході технологічного процесу полягає в очищенні та охолодженні до температури 2 – 6 °C. Молоко – сировина приймається з автомолцистерни, після чого направляється на очищення та охолодження в універсальну установку приймання молока УМП – 10 продуктивністю 10000 кг/год (поз. 1.1). З установки після очищення та охолодження молоко сировина направляється у три резервуари для зберігання марки B2 – OMB – 10, місткістю

10 т кожен (поз. 1.2). Далі молоко – сировина направляєтся через відцентровий насос (поз. 1.3) у апаратне відділення на пастеризаційно – охолоджувальну установку марки А1 – ОКЛ – 5, продуктивністю 5000 кг/год (поз. 2.3). Після проходження даного технологічного процесу, молоко сировина направляєтся на сепаратор марки Ж5 – ОС2Т – 3 продуктивністю 5000 кг/год (поз. 2.4), після чого направляєтся на охолодження вершків на пластинчатий охолоджувач марки ООТ – М продуктивністю 1000 кг/год, (поз. 2.5), і у подальшому потоці направляєтся у резервуар для вершків марки Я1 – ОСВ – 2 місткістю 1000 л/год (поз. 2.6).

Далі молоко сировина згідно технологічного процесу потрапляє через відцентровий насос у відділення виготовлення сиру. Першим етапом куди потрапляє молоко є вертикальний сировиготовлювач на даному підприємстві згідно розрахунків та запроєктованого асортимету їх кількість становить шість штук, марки ДОНІ ДАБЛ О ВАТ НС продуктивністю 8000 л/год (поз. 3.1), після чого потрапляє на насос(поз. 3.2), який направляє на горизонтальний формовщик для пластових сирів марки ДОНІ – ПРЕСС ВАТ продуктивністю 8000 л/год (поз. 3.3). Після формування продукт направляєтся на формування сиру у спеціальний формувальний станок марки ДОНІ ПРЕС, продуктивністю 36 гол/год (поз. 3.4), після даної процедури направляєтся на механізм для зняття кришок з форм макрки ДОНІ МОЛДМАТІК LRD продуктивністю 200 цик/год (поз. 3.5), після даної процедури направляєтся на механізм який виконує процес витягування продукту після пресування марки ДОНІ МОЛДМАТІК PRD продуктивністю 200 цик/год,(поз. 3.6). Далі продукт направляєтся у басейни для сиру марки APS – Group BC – 5, продуктивністю 1575 кг (поз. 3.7) таких у даному цеху міститься 15 шт.

Після прийняття сольових ванн у басейні, сир направляєтся у фасувальний станок де упаковується у плівку марки М6 – АУД, продуктивністю 200 гол/год (поз. 3.8). Після фасування у плівку готовий упакований сир направляєтся зберігатися на стелажах марки ЕКОПОЛІС продуктивністю 150 кг/пол (поз. 3.9). Далі згідно технологічного процесу з виробництва твердих



сирів утворюється сироватка в наслідок пресування сирних головок, яка направляється у відділення виробництва напоїв із сироватки згідно запроєктованого асортименту. Спершу сироватка потрапляє через насос у резервуари для зберігання сироватки марки Я – ОСВ – 6 продуктивністю 10000 л/год їх у даному відділі є два (поз. 4.1, та 4.2), після зберігання сироватка направляється через насос (поз. 4.3) направляється у сепаратор для сироватки марки Г9 – КОВ – 10 продуктивністю 10000 л/год, після проведення сепарування через насос (поз. 4.5), сироватка направляється в пастеризаційно охолоджувальну установку марки А1 – ОКЛ – 10 продуктивністю 10000 л/год (поз. 4.6).

Після проведення пастеризації та охолодження через насос(поз. 4.7), сироватка направляється у два резервуари марки Я1 – ОСВ – 4 продуктивністю 4000 л/год (поз. 4.8 та 4.8), де відбувається процес перемішування та внесення компонентів для напоїв з сироватки: це екстракт меліси та екстракт цитрусу а також цукор тощо. Після процесу перемішування сироватка через насос (поз. 4.9), направляється на фасувальний станок марки МИЛКПАК – 6, продуктивністю 100 уп/хв (поз. 4.10), згідно стандарту продукт фасується у політелену плівку. Після чого направляється у камеру для зберігання.

#### **2.2.4. Організація технологічного і мікробіологічного контролю виробництва запроєктованого асортименту**

Сир - найбагатше джерело кальцію, вміст якого залежить від вмісту води, способу коагуляції білка та технології виготовлення. Подібно кальцію, що міститься в молоці, кальцій сиру добре засвоюється організмом людини в кількостях, рівним внесеним відповідним пропорціям кальцію й фосфору, а також присутнім одночасно з ними білкам. Найбільша кількість кальцію міститься у твердих пресованих сирах, найменше - у м'яких й сирах з підвищеним рівнем молочнокислого бродіння.

Вміст жиророзчинних вітамінів у сирі, головним чином А и D, а також вітаміну Е, безпосередньо пов'язаний зі змістом у продукті ліпідів, що може

коливатися в межах від 0 (в деяких свіжих сирах) до 70% (у продуктах, збагачених вершками). Що стосується вмісту водорозчинних вітамінів, то залежно від виду сиру воно може бути досить різним. Так, вітаміни групи В у значній кількості виходять з сироваткою в процесі її виділення (у згустку залишається не більше 25% цих вітамінів), а вітамін С видаляється повністю. Своєрідною компенсацією цієї втрати слугує синтез бактеріальною й грибною мікрофлорами сиру декількох вітамінів групи В: у готовому сирі відзначається підвищений вміст рибофлавіну, пантотенової кислоти, вітаміну В<sub>6</sub> та фолієвої кислоти; у деяких випадках мова йде також про вітаміни В<sub>1</sub> і В<sub>2</sub>.

Ліпіди обумовлюють маслянистість сирного тіста. При дозріванні сиру під дією ліпаз мікробного походження відбувається обмежений процес ліполіза, що супроводжується утворенням вільних жирних кислот. Деякі із цих кислот відносяться до летючих, які приймають участь у формуванні аромату сиру. Ліпіди молока (тригліцериди, фосфогліцериди, сфінгозиди) присутні в сирі в емульгованому вигляді, що підвищує їх засвоюваність. Жирні кислоти, що містяться в сирі, знижують ризик розвитку ракових захворювань. Екстрактивні речовини поліпшують його аромат та зовнішній вигляд, збуджують апетит, сприятливо впливають на травні залози. Енергетична цінність сиру залежить від вмісту в ньому жиру і сухих речовин та коливається в межах від 250 до 450 ккал на 100 г продукту.

Вміст вологи в сирах залежить від виду сиру і вмісту в ньому жиру: чим менша масова частка жиру в сухій речовині сира, тим більше масова частка вологи. Розподіл хімічних компонентів і фізичних властивостей сиру за об'ємом головки не є однорідним. Розрізняють групу сирів, в яких волога розподілена достатньо рівномірно, лише кірковий шар сухіший і більш щільний (російський, углицький). В інших сирах вміст вологи підвищується від периферії до центру головки (радянський, голландський). Високий вміст ароматичних речовин в зрілому сирі сприяє відділенню травних соків, тому сир, крім високої засвоюваності, має лікувальні й дієтичні властивості, покращує апетит.

У 100 г жирного сиру міститься близько 2,4 г мінеральних речовин (не враховуючи повареної солі), зокрема близько 1 г кальцію і 0,6 г фосфору, що є надзвичайно цінним, оскільки велика частина цих елементів органічно пов'язана з білком. Фізіологічна норма споживання сиру складає 6,6 кг на рік. Для виробництва сиру використовують молоко (суміш) визначеної жирності. Нормалізація молока ведеться в потоці на сепараторах-вершковідділювачах за жиром нормалізованої суміші. Після заповнення сепараторів перевіряють масову частку жиру в нормалізованому молоці й остаточно регулюють її додаванням пастеризованого знежиреного молока або вершків. Якщо необхідно, проводиться нормалізація за білком (до м. ч. білку 3,2%).

Жирність молока, що надходить на завод, часто вище, ніж потрібно, тому незбиране молоко змішують із знежиреним у необхідних співвідношеннях. В сирах із заниженим вмістом жиру передбачається більш високий вміст вологи для отримання сиру з більш м'якою консистенцією. Орієнтовно масову частку жиру в нормалізованому молоці можна визначити за таблицями, наведеними в технологічних інструкціях з виробництва сирів.

Далі відбувається процес підготовки нормалізованої суміші до згортання. Підготовка складається з охолодження молока, внесення в нього хлористого кальцію та бактеріальної закваски. У сироварінні застосовують в основному два види заквасок: до складу заквасок для сирів з низькою температурою другого нагрівання входять мезофільні молочнокислі стрептококи, а до сирів з високою температурою другого нагрівання - термофільні молочнокислі палички. Під час виготовлення твердих сирів у пастеризоване молоко вносять від 0,2 до 0,5 % закваски. Залежно від складу і властивостей молока в нього вносять хлористий кальцій 10...40 г та безводної солі на 100 кг молока у вигляді 40 %-го розчину. Щоб припинити розвиток газоутворюючих бактерій та запобігти пізньому здуванню сирів під час їх визрівання застосовують калійну селітру ( $KNO_3$ ).

Для згортання використовують ферментний препарат - сичуговий порошок, який одержують на спеціальних заводах зі слизуватої оболонки шлунка (сичуга) новонароджених телят чи ягнят. Тривалість згорання молока

становить 25...90 хв, залежно від виду сиру. Оптимальною температурою для згортання молока вважається 41...42 °С. Підвищена кислотність прискорює згортання.

У сучасному виробництві молочних продуктів важливе значення відіграють органолептичні, фізико – хімічні та мікробіологічні показники, які є одними із важливих факторів молочного виробництва. Асортимент нашого ряду виготовляються відповідно до вимог ДСТУ 6003:2008 “Сири тверді”.

**Таблиця 2.5** – Органолептичні показники запроєктованого асортименту

Назва показника	Характеристика сиру		
	Ярославський	Естонський	Буковинський
Зовнішній вигляд	Поверхня чиста, рівна, покрита парафіновими, полімерними чи комбінованими сплавами або полімерними плівками.	Поверхня чиста, рівна, покрита парафіновими, полімерними чи комбінованими сплавами або полімерними плівками.	Поверхня чиста, рівна, без механічних ушкоджень, сторонніх нашарувань і товстого поверхневого шару, покрита захисним покриттям (парафіновим, полімерним, скомбінованим чи полімерними плівками тощо), яке щільно прилягає до поверхні сиру.
Смак і запах	Виражений сирний, злегка кислуватий	Виражений сирний, злегка кислуватий, злегка пряний	Помірно виражені сирні, злегка кислуваті
Консистенція	Ніжна, пластична, однорідна	Пластична, однорідна	Пластична, ніжна, однорідна за всією масою. Дозволено злегка щільна
Рисунок	Вічка круглої, овальної форми	Вічка круглої, злегка овальної форми, рівномірно розміщені на поверхні зрізу	Вічка круглої, овальної або неправильної форми
Колір	Від білого до ледь жовтого, однорідний за всією масою		Від білого до слабо-жовтого, однорідний за всією масою
Форма головок сиру	Високий циліндр, дозволено злегка овальна форм		Бруски, циліндри, сфери та інші форми

**Таблиця 2.6** – Фізико хімічні показники запроєктованого асортименту

Назва показника	Масова частка жиру %		
	Жиру в сухій речовині	Частка вологи не більше ніж	Маса кухонної солі не більше ніж
Ярославський	45 ± 1,6	44	1,5
Естонський	50 ± 2	44	2,5
Буковинський	45 ± 2		2.5
<p>Примітка. Уразі застосовування масова частка повинна бути не більше ніж для:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- бета-каротину — 6 мг/кг (у перерахунку на каротин);</li> <li>- екстракту аннато — 15 мг/кг.</li> </ul>			

**Таблиця 2.7** Мікробіологічні показники запроєктованого асортименту

Назва показника	Допустимий рівень	Метод контролювання
Бактерії групи кишкових паличок (коліформи), в 0,01 г	Не дозволено	Згідно з ГОСТ 9225
Патогенні мікроорганізми, в тому числі бактерії роду <i>Salmonella</i> , в 25 г	Не дозволено	Згідно з ДСТУ ЮР93А
<i>ZiarByIocossiz aigeiz</i> , КУО в 1 г, не більше ніж	5- 10 <sup>2</sup>	Згідно з ГОСТ 30347

### **2.3 Забезпечення технологічного процесу виробництва запроєктованого асортименту**

Мікробіологічний та технохімічний контроль на підприємстві здійснюється згідно вимог державних стандартів, міжнародних стандартів, технічних умов та інструкцій. Згідно цих вимог проводять контроль сировини, що надходить на виробництво, стадій процесу виробництва та готового продукту, у процесі контролю за технохімічними та мікробіологічними показниками проводять лабораторії, які розташовані на виробництві.

**Мікробіологічний контроль** - (МБК) при виробництві молочних

продуктів забезпечує виробництво високоякісної продукції. МБК включає перевірку якості сировини, яку приймають на підприємство, побічних продуктів виробництва (вершки, сироватка), допоміжних матеріалів при виробництві, готових виробів, контроль технологічного процесу виробництва запланованого асортименту. У процесі виробництва лаборанти здійснюють відбір проб згідно норм, та проводять аналізи. Результати контролю вносять у журнал.

**Технічному контролю** піддаються пакувальні та допоміжні матеріали. Здійснюють санітарно-гігієнічний контроль стану обладнання та повітря виробничих приміщень. Особливу увагу приділяють контролю миючих засобів та засобів дезінфекції, якості проведеного миття та знезаражування обладнання яке безпосередньо контактує з продуктом.

Лабораторний контроль забезпечує регулювання втрат сировини та інших компонентів молока для виготовлення сиру і напоїв. Якісний контроль усіх показників забезпечує високу якість та безпечність готових продуктів. Характеристика технохімічного контролю виробництва сичужних сирів подана у таблиці 2.8.

**Таблиця 2.8** – Технохімічний контроль виробництва сичужних сирів

Об'єкт	Контрольний показник	Періодичність контролю	Відбір проб	Метод контролю вимірювальних приладів
Молоко при резервуванні і визріванні	Температура Кислотність	Щоденно	У кожній місткості те саме	ДСТУ 6066:2008, ГОСТ 3624
Нормалізована суміш	Кислотність Масова ч.ж % Масова ч.б %	-	У кожній партії, те саме	ГОСТ 3624, ГОСТ 5867 Формольне титрування
Пастеризована суміш	Кислотність Температура Ефективність пастеризації	-	У кожній виробці, те саме	ГОСТ 3624, ДСТУ 7380:2013

Молоко перед зсіданням	Масова ч.ж % Кислотність Маса бактеріальної закваски %	-	-	ГОСТ 5867, ГОСТ 3624
Зсідання молока	Температура С Тривалість зсідання Кислотність Т Якість сирного згустку	-	-	ДСТУ 6066:2008, ГОСТ 3624, візуально
Оброблення сирного згустку	Розмір сирного зерна мм Тривалість технологічного процесу Температура С	-	-	Годинник, ДСТУ 6066:2008, Органолептичний, лічильник
Сироватка молочна	Масова частка жиру % Кислотність Т	-	-	ГОСТ 5867 та ГОСТ 4992, ГОСТ 3624 без додавання води
Самопресування і пресування сиру	Кислотність Т або рН	Щоденно	У кожній виробці	ГОСТ 3624
Сир після пресування	Масова частка вологи % Масова частка жиру % Кислотність Т	-	У кожній партії, те саме	ГОСТ 3624, ГОСТ 5867
Розсіл	Кислотність Концентрація Температура	Не рідше одного разу	У басейні для соління	ГОСТ 3624
Повітря в камері	Температура Відносна вологість	-	У камері визрівання	Термометр

### 2.3.1. Підбір технологічного обладнання

Підбираємо технологічне обладнання для відділення з виробництва сиру «Естонського» і «Ярославського» та сиру «Буковинського» та відділення з переробки сироватки. Підприємство складається із:

- приймального відділення;
- апаратного відділення;
- відділення виробництва сиру

### ***Відділення виробництва напоїв із сироватки***

#### **Приймальне відділення**

Для приймання молока встановимо універсальну установку для прийому і охолодження молока. Розраховуємо продуктивність :

$$П = \frac{М}{Т},$$

де, М – маса молока-сировини, кг;

Т – тривалість приймання, год.

$$П = \frac{24000}{3} = 8000 \text{ кг/год.}$$

Для приймання обираємо універсальну модульну установку УПМ-10,0, продуктивністю 10 м<sup>3</sup>/год. Фактичний час роботи обладнання :

$$Т_{\text{ф}} = \frac{М}{П_{\text{обл.}}},$$

де, П<sub>обл.</sub> – продуктивність обладнання, кг/год.

$$Т_{\text{ф}} = \frac{24000}{10000} = 2,4 = 2 \text{ год } 24 \text{ хв}$$

До складу установки входить лічильник електромагнітний, насос для перекачування, буферна ємність, повітровловлювач, фільтр для очистки молока, та охолоджувач. Керування установкою здійснюється з пульта керування.

Для тимчасового резервування молока обираємо ємності для зберігання 100% молока, що надходить за добу. Оскільки підприємство працює в одну зміну за добу, то нам необхідно забезпечити зберігання 24000 кг незбираного молока. Обираємо три резервуари марки В2-ОМВ-10, місткість 10 м<sup>3</sup>.

#### **Апаратне відділення**



Для того, щоб забезпечити теплову обробку сировини та нормалізованих сумішей, що призначені для виробництва сирів, а також забезпечити їх мікробіологічну чистоту, необхідно встановити у відділенні установку для пастеризації та охолодження молока. Розрахункова продуктивність :

$$П = \frac{24000}{5} = 4800 \frac{\text{кг}}{\text{год}}$$

Враховуючи розрахункову продуктивність, підбираємо пастеризаційну установку А1- ОКЛ - 5, продуктивністю 5000 л/год. Фактичний час роботи:

$$T_{\phi} = \frac{24000}{5000} = 4,8 = 4 \text{ год } 48 \text{ хв}$$

Для виготовлення сирів, згідно із технологічними розрахунками проведеними раніше, нам потрібні нормалізовані суміші із вмістом жиру у них 3,17%, котрі отримуємо сепаруванням вихідної сировини. Сепарування проводимо за допомогою сепаратора-вершковіддільника Ж5-ОС2Т-3, потужністю 5 м<sup>3</sup>/год. Побічним продуктом сепарування є вершки масовою часткою жиру 35%, тому для тимчасового резервування вершки спочатку охолоджують. Для охолодження вершків обираємо пластинчатий охолоджувач марки ООТ-М, продуктивності 1000 л/год. Для резервування охолоджених вершків масою 864,3 кг обираємо резервуар місткістю 1000 л, марки Я1-ОСВ-2.

### **Відділ виготовлення сиру**

Для відділення виробництва твердого сиру обираємо новітнє обладнання фірми DONI@Double O Vat НС. Для виробництва сиру “Ярославського“, “Буковинського малого“ та “Естонського“, обираємо шість вертикальних сиро виготовлювачі об’ємом 8000 л. Необхідну кількість сиро виготовлювачів для виробництва сиру розрахуємо за формулою.

$$N = \frac{M}{V \cdot K}$$

М – кількість сировини, що обробляється, л.

К – коефіцієнт використання ємності (K=0,75 – для сиро виготовлювачів).

$$N_{\text{Ярос}} = \frac{7711,7}{8000 \cdot 0,75} = 1,28 \approx 2 \text{ шт}$$

$$N_{\text{буков}} = \frac{7711,7}{8000 \cdot 0,75} = 1,28 \approx 2 \text{ шт}$$

$$N_{\text{естон}} = \frac{7711,7}{8000 \cdot 0,75} = 1,28 \approx 2 \text{ шт}$$

Після сировиготовлювача встановлюємо пресувальний автомат марки DONI®Pressvat з продуктивністю 8000 л/год. Розраховуємо продуктивність запроєктованого асортименту.

Пресування, максимальне відділення сироватки та формування головок сиру, здійснюємо за допомогою модуля для пресування DONI®Press.

$$N = \frac{276}{36} \approx 8 \text{ шт} - \text{для Ярославського}$$

$$N = \frac{194}{36} \approx 5 \text{ шт} - \text{для Буковинського}$$

$$N = \frac{272}{36} \approx 8 \text{ шт} - \text{для Естонського}$$

Разом  $8+5+8=21$  шт.

Зняття кришок з форм здійснюємо у модулі зняття кришок марки DONI®Mouldmatic LRD, продуктивністю 200 цикл/год. Фактичний час роботи:

$$T_{\phi} = \frac{276}{200} = 1,38 = 23 \text{ хв} - \text{для Ярославського}$$

$$T_{\phi} = \frac{194}{200} = 0,97 = 58 \text{ хв} - \text{для Буковинського}$$

$$T_{\phi} = \frac{272}{200} = 1,36 = 1,22 \text{ хв} - \text{для Естонського}$$

Витягування продукту після пересування здійснюємо у модулі DONI®Mouldmatic PRD, продуктивність 200 циклів/год. Фактичний час роботи:

$$T_{\phi} = \frac{276}{200} = 1,38 = 23 \text{ хв} - \text{для Ярославського}$$

$$T_{\phi} = \frac{194}{200} = 0,97 = 58 \text{ хв} - \text{для Буковинського}$$

$$T_{\phi} = \frac{272}{200} = 1,36 = 1,22 \text{ хв} - \text{для Естонського}$$

Для соління сиру “Ярославського“, “Буковинського малого“ та “Естонського“, обираємо басейн для соління компанії APS Group, марки БС-5,

складається з 5 контейнерів, максимальна маса сиру в басейні 1575 кг. Кількість контейнерів для соління, при солінні сиру 2 доби:

$$N_k = \frac{826,7 * 2}{315} \approx 5 \text{ шт.} - \text{для Ярославського}$$

$$N_k = \frac{774,26 * 2}{315} \approx 5 \text{ шт.} - \text{для Буковинського}$$

$$N_k = \frac{816,32 * 2}{315} \approx 5 \text{ шт.} - \text{для Естонського}$$

Головки сиру упаковуємо в плівку, для упакування обираємо машину марки Мб-АУД, продуктивністю 150-200 гол/год.

$$T_\phi = \frac{276}{200} = 1,38 = 1 \text{ год } 30 \text{ хв} - \text{для Ярославського}$$

$$T_\phi = \frac{194}{200} = 0,97 = 58 \text{ хв} - \text{для Буковинського}$$

$$T_\phi = \frac{272}{200} = 1,36 = 1 \text{ год } 27 \text{ хв} - \text{для Естонського}$$

Для визрівання сирів обираємо стелажі виробництва Екополіс, максимальне навантаження на одну полицю 150 кг.

Площа, яку займають стелажі розрахуємо за формулою:

$$S_k = \frac{826,7 * 60}{1230} = 40 \text{ м}^2 - \text{для сиру Ярославський}$$

$$S_k = \frac{774,26 * 30}{1230} = 19 \text{ м}^2 - \text{для сиру Буковинського}$$

$$S_k = \frac{816,32 * 30}{1230} = 20 \text{ м}^2 - \text{для сиру Естонського}$$

Кількість стелажів відповідно:

$$N_k = \frac{79}{1,344} = 59 \text{ шт.}$$

### **Відділення виробництва напоїв із сироватки**

Даний відділ передбачає виробництво сироваткових напоїв, із отриманої при виробництві сичужних сирів сироватки. Для зберігання сироватки встановлюємо два резервуари марки Я – ОСВ - 6, фірми ПАЛАДІУМ, продуктивністю 10000 кг кожен.

Перед виробництвом напоїв, сироватку спочатку направляємо на освітлення. Освітлення проводимо у сепараторі для сироватки з відцентровим

вивантаженням осаду. Для цього обираємо сепаратор марки Г9 – КОВ – 10 продуктивністю 10 м<sup>3</sup>/год.

Освітлену сироватку відправляють на пастеризацію. Для пастеризації установимо пастеризаційно - охолоджувальну установку марки А1-ОКЛ-10, продуктивністю 10000 л/год. Розрахункову продуктивність:

$$\Pi = \frac{18511,92}{10} = 1851,19 \text{ кг/год}$$

Фактичний час роботи: для напою сироваткового з мелісою:

$$T_{\phi} = \frac{9255,96}{10000} = 0,92 = 55 \text{ хв.}$$

Фактичний час роботи: для напою сироваткового з цитрусом:

$$T_{\phi} = \frac{9255,96}{10000} = 92 = 55 \text{ хв.}$$

Отже для виробництва напою «З мелісою», обираємо три резервуар марки Я1-ОСВ-4 місткістю 4 м<sup>3</sup>. Для виробництва напою «З цитрусом» встановимо три резервуари Я1-ОСВ-4 місткістю 4 м<sup>3</sup>.

Для фасування встановимо одну вертикальну фасувальну установку марки МИЛКПАК 6 продуктивністю 100 упаковки за хвилину, для фасування напою «З цитрусом» та напою «З мелісою».

Фактичний час роботи для напою з мелісою

$$T_{\phi} = \frac{15426,31}{100 * 60 * 1} = 2,59 = 3 \text{ год.}$$

Фактичний час роботи для напою з цитрусом

$$T_{\phi} = \frac{9748,44}{100 * 60 * 1} = 1,6 = 1 \text{ год } 36 \text{ хв.}$$

**Таблиця – 2.9** Зведена таблиця технологічного обладнання.

Но мер №	Найменування обладнання	Тип, марка	Продуктивність	Кількість	Довжина	Ширина	Висота	Площа обладнання	Загальна площа
1. Приймальне відділення									

1.	Універсальна установка приймання молока	УПМ-10	10000	1	1350	1200	1720	1,62	1,62
2.	Резервуар	В2-ОМВ-10	10000	3	4300	2270	2825	9,76	29,28
3.	Насос відцентровий	36-мц-10-20	10 год	1	500	400	450	2,0	2,0
Всього									32,9
2. Апаратне відділення									
4.	Пастеризаційна установка	А1-ОКЛ-5	5000 л/год	1	3700	3600	2500	13,3	13,3
5.	Сепарування	Ж5-ОС2Т-3	5000 л/год	1	860	590	1445	5,07	5,07
6.	Охолодження вершків	ООТ-М	1000 л/год	1	460	270	640	1,24	1,24
7.	Резервуар для вершків	Я1-ОСВ-2	1000 л/год	1	1535	1335	2827	2,5	2,5
8.	Насос відцентровий	36-мц-10-20	10 год	1	500	400	450	2,0	2,0
Всього									24,11
3. Відділ виготовлення сиру									
9.	Насос відцентровий	36-мц-10-20	10 год	1	500	400	450	2,0	2,0
10.	Вертикальний сировиготовлювач	DONI® Double O Vat HC	8000 год	6	4050	2700	2370	10,9	65,4
11.	Горизонтальний формовщик для пластових сирав	DONI® Pressvat	8000 л/год	1	5060	1400	-	7,08	7,08
12.	Формування головок сиру	DONI® Press	36 гол/шт	21	4000	1800	2500	7,20	151,2

13.	Зняття кришок з форм	DONI <sup>®</sup> Mouldmatic LRD	200 цикл/год	1	2000	1600	2300	3,20	3,20
14.	Витягування продукту після пересування	DONI <sup>®</sup> Mouldmatic PRD	200 цикл/год	1	2000	1600	2300	3,20	3,20
15.	Басейн для сиру	APS Group, марки БС-5	1575 кг.	15	7460	1375	1600	10,2	153,0
16.	Фасування сиру у плівку	марки М6-АУД	200 гол/год	1	4760	1300	2400	6,18	6,18
17	Стелажі Екополіс	Екополіс	150 кг/пол	59 шт	1400	960	4000	1,344	79,3
	Всього								470,56
<b>4. Відділення виробництва напоїв із сироватки</b>									
18.	Резервуари для сироватки	марки Я – ОСВ - 6	10000 л/год	2	2900	2535	3380	7,35	14,7
19.	Сепаратор для сироватки	марки Г9 – КОВ – 10	10000 л/год	1	1500	1238	1570	1,85	1,85
20.	Пастеризаційно охолоджувальна установка	марки А1-ОКЛ-10	10000 л/год	1	5400	3500	2500	18,9	18,9
21.	Резервуар для напою з мелісою	Я1-ОСВ-4	10000 л/год	2	2900	2535	3380	7,35	14,7
22.	Резервуар для напою з цитрусом	Я1-ОСВ-4	10000 л/год	1	2900	2535	3380	3,64	7,35
23.	Фасувальна установка	МИЛК ПАК 6	100 уп/хв	1	1550	1100	3000	1,70	1,70
	Всього								59,2

### 2.3.2. Розрахунок площ виробничих і допоміжних приміщень

## Обчислення площі відділення приймально-миючого

Розраховуємо число автомолцистерн, що надходять за 1 год.:

$$n_{\text{маш}} = \frac{M_{\text{год}}}{M_{\text{ц}}}$$

де,  $M_{\text{год}}$  – швидкість приймання молока, кг/год;

$M_{\text{ц}}$  – місткість 1-ї автомолцистерни, кг;

$$n_{\text{маш}} = \frac{10000}{8000} = 2 \text{ шт}$$

Визначаємо час приймання молока - сировини

$$T_{\text{заг}} = n_{\text{маш}} \cdot (T_{\text{пр}} + T_{\text{д}} + T_{\text{м}})$$

де,  $T_{\text{пр}}$  – час забору молока з однієї машини (20 хв.);

$T_{\text{д}}$  – додатковий час на 1-ну автомолцистерну (5 хв.);

$T_{\text{м}}$  – час миття автомолцистерни (14 хв. – очищення лужне)

$$T_{\text{заг}} = 2 \cdot (20 + 5 + 14) = 78 \text{ хв}$$

Визначимо число постів для організації годинного прийому молока та миття автомолцистерни

$$\Pi = \frac{T_{\text{заг}}}{60}$$

$$\Pi = \frac{78}{60} = 1,3 = 2 \text{ пости}$$

Загальна площа відділення приймання та миття

$$F_{\text{пр}} = F_1 \cdot \Pi$$

$F_1$  – площа 1-го поста, м<sup>2</sup> ( $F_1=72 \text{ м}^2$ )

$$F_{\text{пр}} = 72 \cdot 2 = 144 \text{ м}^2 = 4 \text{ буд. кв.}$$

## Обчислюємо площу приймального відділення

Визначаємо розрахункову площу приймального відділення, що займає обладнання

$$F = K \cdot \sum F_{\text{об}}$$

$\sum F_{\text{об}}$  – сума площ, на якій розташоване технологічне обладнання, м<sup>2</sup>;

$K$  – коефіцієнт запасу площі для відділення приймання  $K=4$

$$F = 4 \cdot 32,9 = 131,6 \text{ м}^2$$

$$n_{\text{буд.}} = \frac{131,6}{36} = 3,65 = 4 \text{ буд. кв.}$$

### **Визначаємо площу апаратно-виробничого відділення**

При обчислюванні площі установок пастеризації та охолодження, коефіцієнт запасу не враховуємо.

Коефіцієнт, що враховує запас площі апаратно-виробничого відділення, для сироробних підприємств становить  $K=6$

$$F = 6 * (5,07 + 1,24 + 2,5 + 2) + 13,3 = 78,16 \text{ м}^2$$

$$n_{\text{буд.}} = \frac{78,16}{36} = 2,17 = 2,5 \text{ буд. кв.}$$

### **Обчислюємо площу відділення з виробництва сиру**

Коефіцієнт запасу для даного відділення становить  $K=3$

$$F = 3 * 470,56 = 1411,68 \text{ м}^2$$

$$n_{\text{буд.}} = \frac{1411,68}{36} = 39,21 = 39,5 \text{ буд. кв.}$$

### **Розрахунок відділення виробництва напоїв із сироватки**

Коефіцієнт запасу площі для відділення виготовлення напоїв з сироватки становить  $K=4$ .

$$F = 4 * (14,7 + 1,85 + 14,7 + 7,35 + 1,70) + 18,9 = 180,1 \text{ м}^2$$

$$n_{\text{буд.}} = \frac{180,1}{36} = 5 \text{ буд. кв.}$$

### **Розраховуємо площу приміщення для дозрівання сирів**

$$F = \frac{m * z}{q * K}$$

де,  $m$  – вага продукту за добу, кг

$z$  – термін зберігання продукту, діб

$q$  – навантаження на один  $\text{м}^2$  площі

$K$  – коефіцієнт використання площі 0,3

$$F = \frac{826,7 * 60}{1230 * 0,3} + \frac{774,26 * 30}{1080 * 0,3} + \frac{816,32 * 30}{1080 * 0,3} = 281,66 \text{ м}^2 = 9 \text{ буд. кв.}$$



**Визначаємо площу приміщення холодильного для зберігання готових виробів**

$$F = \frac{m * z}{q * K}$$

де, m - маса продукту за добу, кг

z - термін зберігання продукту, діб

q - навантаження на 1 м<sup>2</sup> площі

K – коефіцієнт використання площі. 0,5

Холодильна камера для зберігання сиру

$$F = \frac{826,7 * 10}{1230 * 0,5} + \frac{774,26 * 10}{1080 * 0,5} + \frac{816,32 * 10}{1080 * 0,5} = 43 \text{ м}^2 = 1,5 \text{ буд. кв.}$$

Холодильна камера зберігання напоїв

$$F = \frac{9637,6 * 0,5}{700 * 0,5} + \frac{15250,92 * 0,5}{700 * 0,5} = 19,2 \text{ м}^2 = 1 \text{ буд. кв.}$$

**Таблиця 2.10** – Зведена таблиця розрахунку площ

№ п/п	Приміщення	Площа		
		Розрахункова м <sup>2</sup>	Компоновочна	
			Будівельні квадрати	м <sup>2</sup>
1	Приймально-миюче відділення	144	4	144
2	Приймальне відділення	131,6	4	131,6
3	Апаратурно-виробничий цех	78,16	2,5	78,16
4	Відділення виробництва сиру	1411,68	39,5	1411,68
5	Відділення виробництва напоїв із сироватки	180,1	5	180,1
6	Приймальна лабораторія	-	0,5	18
7	Хімічна лабораторія	-	1	36
8	Бактеріологічна лабораторія	-	0,5	18
9	Кабінет зав. лабораторії	-	0,5	18
10	Кабінет технолога	-	0,5	18
11	Бойлерна	-	1	36
12	Трансформаторна	-	1	36
13	Компресорна	-	2	72
14	Склад тари	-	1	36
15	Склад зберігання миючих засобів	-	0,5	18
16	Складова інвентарю	-	0,5	18
17	Експедиції	-	1	36
18	Гардероб жіночий	-	0,5	18

19	Гардероб чоловічий	-	0,5	18
20	Кімнати відпочинку	-	0,5	18
21	Побутові приміщення	-	2	72
22	Коридор	-	7,5	270
	Всього	1945,54	76	2701,54

## **Розділ 3 НАУКОВО-ДОСЛІДНА ЧАСТИНА**

### **3.1 Аналітичний огляд літератури**

Органолептичні властивості молочних продуктів, зокрема, смак, запах, консистенція готового продукту є одними із основних факторів, що гарантують високий рівень попиту серед споживачів. Властивий кожного харчовому продукту смак і запах забезпечують такі поживні речовини, як білки, жири, вуглеводи та продукти їхнього розпаду. Більшість смако-ароматичних речовин у молочних продуктах утворюються у процесі протеолізу білків молока [20, 21], який активно відбувається під час виробництва таких кисломолочних продуктів, як: кефір, йогурт, кумис, сир кисломолочний та ін. Більш інтенсивно цей процес проходить при виробництві твердих сирів, при визріванні яких відбуваються біохімічні зміни білків молока. Зокрема, розщеплення білків та амінокислот ферментами молочнокислих і пропіоновокислих бактерій збагачує молочні продукти розчинними у воді нітрогеновмісними сполуками, внаслідок чого продукт набуває необхідної консистенції, смаку, запаху [22-26].

У виробництві молочних продуктів, окрім забезпечення органолептичних властивостей продукту (які є важливими для споживача), у процесі протеолізу білків молока відбувається утворення великої кількості пептидів, які мають різну біологічну активність [27-28]. Внаслідок протеолітичного розщеплення казеїнів утворюються біологічно активні пептиди, які мають такі властивості: здатність впливати на процеси зсідання крові, транспортувати іони кальцію у кишківнику, імуномодулюючі та антигіпертензивні властивості, опіоїдну дію та інші [29-31]. Серед біологічно активних пептидів протеїнів сироватки молока були знайдені пептиди з опіоїдною та бактерицидною дією; пептиди, що впливають на моторику кишківника; інгібітори ангіотензин перетворювального ензиму, імуномодулюючі та гіпохолестеролемічні [32-34]. Попередником усіх перелічених видів біологічно активних пептидів, окрім імуномодулюючих, є  **$\beta$ -лактоглобулін**, а серед біологічно активних пептидів, утворених з  **$\alpha$ -лактоальбуміну**, відсутні пептиди, що впливають на моторику кишківника та пептиди з гіпохолестеролемічною дією. Лише два види біологічної активності притаманні пептидам з лактоферину: бактерицидні та імуномодулюючі.

Протеоліз білків під дією молочнокислих мікроорганізмів відбувається поступово. Найчутливішими до протеолітичних ферментів є протеїни казеїнового комплексу, який спочатку розпадається до високомолекулярних поліпептидів, згодом до пептидів (з середньою і малою молекулярною масою) та амінокислот. *На початковому етапі протеолізу* перетворення відбувається під дією позаклітинних і приклітинних протеїназ, а глибші перетворення поліпептидів проходять під дією мембранних і внутрішньоклітинних пептидаз молочнокислих бактерій [25, 26, 35, 36].

До складу різних видів заквашувальних препаратів для молочних продуктів входять **лактококи** та **лактобацили**. Це грампозитивні молочнокислі м/о, які легко вирощувати у промислових масштабах у середовищах з молочною сироваткою. Вони є ауксотрофами, тобто їхня здатність розвиватися у молочному середовищі залежить від активності протеолітичної системи, що забезпечує вивільнення есенціальних амінокислот у процесі розщеплення білків казеїнового комплексу, який м/о використовують під час синтезу білків [37].

Протеолітична система молочнокислих бактерій складається з:

- ✓ **протеїнази** – забезпечують початкове розщеплення казеїну до пептидів і утворення великої кількості олігопептидів;
- ✓ **пептидази** – розщеплюють пептиди до амінокислот;
- ✓ **транспортна система** – забезпечує перенесення продуктів протеолізу через цитоплазматичну мембрану [37].

**Протеїнази** функціонують поза клітинами м/о, які їх продукують, а **пептидази** – у клітинах молочнокислих бактерій. З усього вищезазначеного констатуємо, що метою нашої роботи є аналіз та узагальнення наукової інформації про особливості будови, умови утворення та біохімічні властивості протеїназ і пептидаз молочнокислих мікроорганізмів, які використовуються при виробництві різних молочних продуктів.

### 3.1.1 Протеїнази молочнокислих бактерій

**Локалізація протеїназ.** Для молочнокислих мікроорганізмів протеїнази є мономерними сериновими протеїназами з молекулярною масою 180 000-190 000 Да (табл. 3.1). Вони зв'язані з клітинною стінкою бактерії і називаються **приклітинними протеїназами** або *PrtP*.

**Таблиця 3.1** Загальна характеристика протеїназ молочнокислих м/о

Види і штами молочнокислих мікроорганізмів	Молекулярна маса*, кДа	Субстрат, який розщеплює протеїназа	pH оптимум
<i>L. lactis ssp. cremoris</i> WG2	187 <sup>n</sup>	κ-, β-каїзени	6,4
<i>L. lactis ssp. cremoris</i> HP		κ-, β-каїзени	
<i>L. lactis ssp. cremoris</i> SKII		α <sub>S1</sub> -, κ-, β-казеїни	
<i>L. lactis ssp. cremoris</i> AC1		α <sub>S1</sub> -, κ-, β-казеїни	
<i>L. lactis ssp. cremoris</i> AM1	180 <sup>e</sup>	α <sub>S1</sub> -, κ-, β-казеїни	6,0
<i>L. lactis ssp. cremoris</i> H2		κ-, β-каїзени	
<i>L. lactis ssp. cremoris</i> NCD0763		α <sub>S1</sub> -, κ-, β-казеїни	
<i>Lb. casei ssp. casei</i> NH14	170 <sup>e</sup>	β-казеїн	6,5
<i>Lb. casei ssp. casei</i> NCD0151			
<i>Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus</i> CNRZ397		α <sub>S1</sub> -, β-казеїни	
<i>Lb. helveticus</i> CNRZ303	45 <sup>e</sup>	α <sub>S1</sub> -, β-казеїни	7,5
<i>Lb. helveticus</i> CP709		α <sub>S1</sub> -, β-казеїни	
<i>Lb. helveticus</i> L89		α <sub>S1</sub> -, β-казеїни	

\*Молекулярну масу ферменту визначали шляхом електрофорезу в поліакриламідному гелі (– e) або обчислювали за первинною структурою (– n).

Для багатьох видів молочнокислих м/о встановлено первинну структуру *PrtP* і гену, що кодує їх синтез [38]. Наприклад, приклітинна протеїназа у лактококів і *Lb. paracasei* містить 1902 амінокислотних залишки, у *Lb. delbrueckii*

– 1946, а в *Lb. lactis* – 1962. Проведений аналіз первинної структури протеїназ вказує на їх подібність до субтилізинів, що теж є сериновими протеїназами з подібними каталітичними доменами [39]. *N-кінцева частина* сформованого ферменту містить каталітичний домен з консервативними амінокислотними залишками, що беруть участь у каталітичному процесі та зв'язуванні субстрату. *C-термінальна частина* приклітинних протеїназ схожа до тієї, яка виявлена у більшості грампозитивних бактерій і включає сигнальну послідовність та  $\alpha$ -спіральну ділянку, яка зв'язується з мембраною.

Локалізація протеїназ за межами клітин можлива у таких випадках:

- 1) розміщення м/о в розчинах, що не містять кальцій;
- 2) при дії на клітини мікроорганізмів ферменту лізоциму.

У першому випадку утворюється фермент з меншою молекулярною масою (165 000 Да), ніж при дії лізоциму (180 000 Да), що ймовірно обумовлено автопротеолізом. Проведені дослідження у лабораторії біохімії молочних продуктів ТНТУ ім. І. Пулюя виявили докази існування позаклітинних протеїназ у *St. salivarius ssp. thermophilus* (штам 9<sub>1</sub>) при протеолізі очищених казеїнових фракцій клітинами мікроорганізмів [40].

**Специфіка протеїназ.** Деякими авторами встановлено, що приклітинні протеїнази вирізняються широкою субстратною специфічністю [41]. Проаналізувавши численні продукти протеолізу не було встановлено ділянок, по яких відбувається протеоліз, а виявлені лише ділянки, що в основному чутливі до дії протеїназ різних типів. Варто відзначити, що ди- і трипептиди та вільні амінокислоти при дії приклітинних протеїназ молочнокислих бактерій на  $\alpha_s$ -,  $\beta$ - і  $\kappa$ -казеїни утворюються в дуже незначних кількостях. Проте утворюється значна кількість більших пептидів (4-8 амінокислотних залишки), які містять усі есенціальні амінокислоти, потрібні для нормального росту молочнокислих бактерій. Усі продукти протеолізу, які утворюються за участі приклітинних протеїназ, містяться в середовищі поза бактеріальною клітиною.

Приклітинні протеїнази молочнокислих мікроорганізмів за специфічністю дії на фракції казеїнового комплексу молока поділяють на 2 типи:

- *протеїнази PI*, які здатні розщеплювати  $\beta$ -казеїни і не розщеплюють  $\alpha_{S1}$ - і  $\kappa$ -казеїни;
- *протеїнази PIII*, які гідролізують усі три фракції:  $\alpha_S$ -,  $\beta$ - і  $\kappa$ -казеїни [42].

**Розщеплення фракції  $\beta$ -казеїну протеїназами.** Проведені останніми роками дослідження детального вивчення продуктів протеолізу казеїнів приклітинними протеїназами молочнокислих бактерій показали, що найчутливішими до дії цих ферментів є  $\beta$ -казеїни. У попередніх дослідженнях специфічність дії протеїназ вивчалась при інкубації очищеної фракції казеїну з інтактними клітинами бактерій і було встановлено, що протеолітичну дію проявляє лише приклітинна протеїназа. [42]. У подальших дослідженнях *in vitro* були використані очищені ферменти, отримані з різних штамів молочнокислих бактерій, і відповідну фракцію казеїну, з метою виявлення дії приклітинних протеїназ молочнокислих мікроорганізмів *L. lactis* і *Lb. helveticus* на  $\beta$ -казеїн [43]. Отримані продукти протеолізу  $\beta$ -казеїну відділяли методами рідинної хроматографії, згодом очищували і встановлювали первинну структуру за Едманом.

Як показали перші результати дослідження, за участю приклітинних протеїназ розщеплюється лише частина  $\beta$ -казеїну і при цьому утворюються в основному великі фрагменти. Дослідження з використанням методу рідинної хроматографії під високим тиском і мас-спектрометрії дали можливість проаналізувати більше 95 % пептидів, які утворювались при розщепленні  $\beta$ -казеїну протеїназою типу *PI* [41]. При цьому, було виявлено більше 100 пептидів, що містили від 4 до 30 амінокислотних залишки (більшість пептидів містила від 4 до 10 залишків), а ди- і трипептиди майже не було виявлено.

У результаті досліджень встановлено, що приблизно 50 % пептидів утворюється з *C*-термінальної частини  $\beta$ -казеїну. А проаналізувавши продукти протеолізу  $\beta$ -казеїну, які утворюються при дії протеїнази типу *PIII*, виявлено 13 ідентичних зв'язків, що розщеплюються протеїназами типу *PIII* і *PI* та 6 зв'язків, які розщеплюються приклітинними протеїназами різних штамів бактерій. Вище згадані пептиди утворюються в основному з *C*-термінальної частини молекули

$\beta$ -казеїну. Окрім протеїназ, які характерні для *Lb. helveticus* і *L. lactis* в *Lb. helveticus* CP790, виявлено значно меншу приклітинну протеїназу (45 000 Да), з класу серинових протеїназ, яка проявляє специфічність до  $\beta$ -казеїну [43].

**Розщеплення фракцій  $\alpha_{S1}$ - і  $\alpha_{S2}$ -казеїнів.** Пов'язане з дією протеїназ типу *PIII* або протеїназ змішаного типу; протеїнази *PI* не гідролізують фракції  $\alpha_S$ -казеїнів. З продуктів протеолізу ідентифіковано 25 основних олігопептидів, з яких близько 50 % утворюється в результаті розщеплення *C*-термінальної ділянки. Також було виділено декілька менших пептидів, які утворюються з ділянок, що межують з чутливими до протеїнази пептидними зв'язками. Exterkate F.A., Albing A.C., Bruinenberg P.G. проводили аналіз специфічності протеїназ на фрагменті  $\alpha_{S1}$ -казеїну, який включав від 1 до 28 амінокислотних залишків і при цьому були використані протеїнази, виділені з 16 різних штамів *L. lactis* [39]. За результатами досліджень протеїнази лактококів розділили на 7 груп, що різнились за специфічністю розщеплення вказаного фрагменту  $\alpha_{S1}$ -казеїну. При порівнянні амінокислотних послідовностей, які відповідальні за зв'язування субстрату у протеїназ з різною специфічністю встановлено, що їх специфічність обумовлена мінорними генетичними варіаціями структурного гену протеїнази. Первинна структура каталітичного домену є консервативною не лише у лактококів, а й в лактобацил з приклітинними протеїназами.

**Розщеплення протеїназами фракції  $\kappa$ -казеїну.** Продукти протеолізу  $\kappa$ -казеїну вивчались у ряду штамів лактококів *L. lactis* при дії приклітинних протеїназ різних типів. Внаслідок розщеплення  $\kappa$ -казеїну утворюється значна кількість малих пептидів, переважно з *C*-термінальною частиною молекули. Більшість пептидних зв'язків постійно гідролізується всіма типами протеїназ, але були знайдені пептиди, які утворюються при дії специфічних протеїназ.

## 1.2 Пептидази молочнокислих бактерій



**Пептидази** – це ферменти, які відщеплюють від молекул пептидів одну амінокислоту з карбоксильної або аміної групи. Є багато літературних джерел присвячених будові, властивостям і специфічності пептидаз, їх основні результати систематизовані у таблиці 3.2.

**Таблиця 3.2** Пептидази молочнокислих мікроорганізмів

Назва ферменту	Субстрат	Штам молочнокислих мікроорганізмів	Молекулярна маса, кДа	Тип пептидази*
<b>Амінопептидази N</b> Пер N	X↓(X) <sub>n</sub>	<i>L. lactis ssp. cremoris</i> Wg2	95	М
		<i>L. lactis ssp. cremoris</i> MG1363	95	
		<i>L. lactis ssp. cremoris</i> HP	95	
		<i>Lb. casei ssp. casei</i> LGG	87	М
		<i>Lb. casei ssp. casei</i> IFPL731	95	М
		<i>Lb. delbrueckii ssp. lactis</i> DSM7290	95	М
		<i>Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus</i> B14	95	М
		<i>Lb. helveticus</i> ITGL1	97	М
		<i>Lb. helveticus</i> SBT2171	95	М
		<i>Lb. sanfrancisco</i> CB1	75	М
<b>Амінопептидази C</b> Пер C	X↓(X) <sub>n</sub>	<i>L. lactis ssp. cremoris</i> AM2	50	Ц
		<i>Lb. delbrueckii ssp. lactis</i> DSM7290	51	Ц
		<i>Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus</i> B14	54	Ц
		<i>Lb. helveticus</i> CNRZ32	50	Ц
<b>Амінопептидази A</b> Пер A	X↓(X) <sub>n</sub>	<i>L. lactis ssp. cremoris</i> AM2	40	М
		<i>L. lactis ssp. cremoris</i> MG1363	38	
<b>Дипептидази V</b> Пер V	X↓X	<i>L. lactis ssp. cremoris</i> Wg2	49	
		<i>L. lactis ssp. cremoris</i> MG1363	51	М
		<i>L. lactis biov. Diacetylactis</i>	50	М
		<i>Lb. delbrueckii ssp. lactis</i> DSM7290	52	М

		<i>Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus</i> B14	51	M
		<i>Lb. helveticus</i> SBT2171	50	M
		<i>Lb. casei ssp. casei</i> IFPL731	46	M
		<i>Lb. sace</i>	50	M
		<i>Lb. sanfrancisco</i> CB1	65	M
<b>Дипепти- дази D,</b> Pep D	X↓X	<i>Lb. helveticus</i> 53/7	54	T
<b>Трипеп- тидази</b> Pep T	X↓X-X	<i>L. lactis ssp. cremoris</i> Wg2	52	M
		<i>L. lactis ssp. cremoris</i> AM2	52	M
		<i>L. lactis ssp. cremoris</i> IMN-C12	23	Ц
<b>Пролідази</b> <b>Q</b> Pep Q	X↓Про	<i>L. lactis ssp. cremoris</i> AM2	42	M
		<i>Lb. delbrueckii ssp. lactis</i> DSM7290	41	M
		<i>Lb. delbrueckii ssp. Bulgaricus</i>	41	M
		<i>Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus</i> CNRZ	41	
		<i>Lb. casei ssp. casei</i> IFPL731	41	M
<b>Х-проліл- дипептидил -аміно- пептидаза</b> Pep X	X-Про↓ (X) <sub>n</sub>	<i>L. lactis ssp. lactis</i> H1	83	C
		<i>L. lactis ssp. cremoris</i> P-8-2-47	90	C
		<i>L. lactis ssp. cremoris</i> AM2	59	C
		<i>L. lactis ssp. cremoris</i> nTR	88	C
		<i>Lb. casei ssp. casei</i> LLG	79	C
		<i>Lb. delbrueckii ssp. lactis</i> DSM7290	88	C
		<i>Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus</i> B14	95	C
		<i>Lb. helveticus</i> 53/7	91	C
		<i>Lb. helveticus</i> LHE-51	87	C
		<i>Lb. helveticus</i> CNRZ32	90	C
<b>Пролін- імінонеп- тидази</b> Pep I	Про↓X- (X) <sub>n</sub>	<i>L. lactis ssp. cremoris</i> HP	50	M
		<i>Lb. delbrueckii ssp. lactis</i> DSM7290	33	C
		<i>Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus</i> CNRZ	33	C
		<i>Lb. helveticus</i> 53/7	34	C
<b>Ендопепти- дази</b>		<i>Lb. helveticus</i> CNRZ32	52	Ц

Pep E		<i>Lb. delbrueckii ssp. lactis</i> DSM7290	50	M
Pep G		<i>Lb. helveticus</i> CNRZ32	71	M
Pep O		<i>L. lactis</i>	71	
Pep F1, Pep F2		<i>L. lactis</i>	70	

\*M – металопротеїдаза; C – серинова протеїдаза; Ц – цистеїнова протеїдаза.

**Локалізація протеїдаз.** У ранніх працях науковці вказували на локалізацію протеїдаз у клітинах молочнокислих бактерій на клітинних мембранах та поза клітинами. Сьогодні більшість дослідників є прихильниками внутрішньоклітинної локалізації усіх протеїдаз молочнокислих м/о [44-45]. Як доказ цього вони вказують на відсутність сигнальних послідовностей та специфічних анкорних ділянок для фіксації на мембрані у всіх протеїдаз (для яких була встановлена первинна структура). Також транспортна система олігопептидів молочнокислих бактерій може забезпечити проходження в клітину великих пептидів, які утворюються при протеолізі казеїну. А при цьому уже немає необхідності розщеплення пептидів на клітинних мембранах чи поза клітиною.

**Специфіка протеїдаз.** За характером дії на субстрати розрізняють:

- ✓ **амінопротеїдази** (гідролізують пептидний зв'язок, утворений аміногрупою поліпептидного ланцюга і карбоксильною групою кінцевої амінокислоти);
- ✓ **карбоксипроїдази** (діють на пептидний зв'язок, утворений карбоксильною групою поліпептидного ланцюга та аміногрупою кінцевої амінокислоти);
- ✓ **дипроїдази** (забезпечують гідроліз дипептидів).

У молочнокислих мікроорганізмах виявлені **амінопротеїдази**: *PepN*, *PepC*, *PepA* та **дипроїдази**: *PepD* і *PepV* [44]. Серед протеїдаз молочнокислих бактерій з карбоксипроїдазною активністю не виявлено жодної.

**Амінопротеїдаза N (*PepN*).** Вивчення генів *PepN* у різних бактерій показало, що первинна структура *PepN* гомологічна до амінопротеїдази N у ссавців [46]. *PepN* може відщеплювати N-кінцеві амінокислоти у ди- і трипептидів. *PepN* краще гідролізує дипептиди, у яких N-кінцевий

амінокислотний залишок аргінін. Слабше гідролізуються дипептиди, які містять лізин і лейцин у першому положенні. Активність ферменту зростає із підвищенням гідрофобності С-кінцевого амінокислотного залишку дипептиду *Arg-X*. При використанні субстрату продуктів трипсинового гідролізату β-казеїну виявлено здатність *PepN* розщеплювати олігопептиди, що містять від 4 до 14 амінокислотних залишків. На основі цього встановлено оптимальний субстрат для *PepN* – гексапептид [47].

Регуляція експресії *PepN* у *L. lactis* залежить від штаму бактерій та поживного середовища [44]. При рості лактококів у молоці активність *PepN* вища, ніж при їх рості на штучних живильних середовищах. Для з'ясування фізіологічної ролі пептидази *N* використовували мутанти *Lb. helveticus* і *L. lactis* з делецією гену *pepN* [48, 49]. На молочному середовищі виявлене незначне зменшення росту у лактобацил, а на штучному живильному середовищі різниці в їх рості не виявлено. Аналогічно ростуть мутанти і дикі штами *L. lactis* на штучному живильному середовищі, але в молоці вони значно відстають у рості.

Амінопептидазу С (*PepC*) можна виділити з багатьох штамів молочнокислих бактерій [44]. Її значну активність встановлено при розщепленні пептидних зв'язків, утворених основними (Арг, Гіс, Ліз), кислими (Глу, Асп), гідрофобними (Ала, Лей) та ароматичними (Фен) амінокислотами. Структурне моделювання *PepC* з *L. lactis* показало, що до складу активного центру ферменту входять С-термінальні залишки і беруть участь у взаємодії α-карбоксихільної групи *PepC* та α-аміногрупи субстрату [50]. Це ж підтверджено і при вивченні мутантів без С-термінального залишку *PepC*.

Амінопептидаза А (*PepA*) може відщеплювати кислі N-термінальні амінокислотні залишки, та N-термінальні Глу і Асп у пептидів різної величини (від 2 до 10 залишків). Мутанти *L. lactis*, у яких відсутня *PepA*, незначно відстають у рості під час лаг-фази, однак на фініші досягають такої ж концентрації як і дикі штами.

X-проліл-дипептидил-амінопептидаза (*PepX*) виявлено в штаммах багатьох видів молочнокислих бактерій. Вона відщеплює дипептиди типу X-Про з N-

термінальної частини пептидів, проявляє амідазну та естеразну активність [51]. *PepX* не гідролізує дипептиди, але розщеплює пептиди, що містять від 3 до 7 амінокислотних залишків [51, 52]. Дипептиди, які звільняються у результаті дії *PepX*, можуть містити в першому положенні залишки основних амінокислот (Арг, Гіс, Ліз), ароматичні (Фен, Тир) та гідрофобні (Ала, Іле, Вал, Глі) амінокислоти. Амінопептидаза *PepX* здатна гідролізувати субстрати типу Про-Про-(X)<sub>n</sub>, проте майже не розщеплює X-Про-Про [45].

У лактококів *L. lactis* було виявлено специфічну амінопептидазу *PepP*, яка звільняє N-термінальні амінокислоти з пептидів типу X-Про-Про-(Y)<sub>n</sub> [53]. Найвищу активність ця амінопептидаза проявляла по відношенню до пентапептидів, які містять від 3 до 9 амінокислотних залишків. В штучному і молочному середовищах є незначна різниця у швидкості росту серед мутантів з делецією гену *PepP* і диких штамів *L. lactis*.

Дипептидази. Дипептидаза *PepD* володіє широкою специфічністю, проте не гідролізує дипептиди, які містять пролінові залишки, і дипептиди з N-термінальними залишками гліцину. Пептидаза *PepV*, на відміну від *PepD*, є важливішою для росту молочнокислих бактерій. Пролін-імінопептидаза *PepI*, яка поширена серед молочнокислих бактерій відщеплює N-термінальний залишок проліну в пептидів і проявляє гідролітичну активність до пептидів типу Про-X. Де X може бути гідрофобним (Ала, Іле, Лей, Вал), кислим (Глу) або ароматичним залишком (Фен, Тир). Специфічність *PepI* лактококів і лактобацил різна: *PepI* лактококів – металопептидаза, а *PepI* лактобацил – серинова. Відсутність пролін-імінопептидази у мутантів з делецією гену *PepI* не впливає на їх ріст у штучних живильних середовищах.

Пролідаза *PepQ* є ферментом, що гідролізує дипептид X-Про. Проте не всі пролідази є дипептидазами, а також не всі субстрати типу X-Про здатні гідролізувати. Спочатку *PepQ* гідролізує дипептиди, в яких у першому положенні є залишки гідрофобних (Ала, Іле, Лей, Вал), основних (Гіс), ароматичних (Фен, Тир) та сірковмісних (Мет) амінокислот. Вивчення штамів бактерій, у яких

нормально функціонує *PepQ*, і штамів без цього ферменту показали, що майже 100 % дипептидів Мет-Про, Лей-Про і Фен-Про гідролізується за участю *PepQ*.

Трипептидази. Трипептидаза *PepT*, яка виділена з *L. lactis*, гідролізує трипептиди, крім пептидів типу X-Про-Y. Інші трипептидази володіють кращою здатністю розщеплювати трипептиди із гідрофобними та ароматичними амінокислотними залишками [54]. Фізіологічна роль трипептидази *PepT* вивчена мало, проте відомо, що її відсутність у лактококів затримує їх ріст у молоці [49].

Пептидаза *PepO* розщеплює олігопептиди, які містять від 5 до 35 амінокислотних залишків [55, 56]. Вона гідролізує пептидні зв'язки, утворені лейцином і фенілаланіном. Ріст мутантів з делецією гену *PepO* та диких штамів *Lb. helveticus* досліджували на різних живильних середовищах і було встановлено незначне відставання в рості мутантів *L.lactis* при використанні в якості живильного середовища молока [49].

Пептидаза *PepF*, яка розщеплює олігопептиди виявлена лише у лактококів. Вона гідролізує олігопептиди, які містять від 5 до 17 амінокислотних залишків. Найвищу розщеплюючу здатність *PepF* проявляє по відношенню до субстратів, що складаються з 8 або 9 залишків. Протеїназа *PepF* не розщеплює нативні білки казеїнового комплексу, проте відіграє важливу роль у процесах росту лактококів у молочному середовищі.

### 3.2 Методи дослідження

Для виконання вище зазначених завдань, що впливають із мети магістерської роботи, нами було використано **дев'ять штамів молочнокислих бактерій**, зокрема мезофільні молочнокислі лактококи, які відносяться до різновидів *Lcc.lactis subsp.lactis* (три штами: l<sub>41</sub>, l<sub>43</sub>, l<sub>46</sub>), *Lcc.lactis subsp.cremoris* (три штами: c<sub>37</sub>, c<sub>39</sub>, c<sub>34</sub>), *Lcc.lactis biovar diacetylactis* (три штами: d<sub>30</sub>, d<sub>31</sub>, d<sub>32</sub>). Ці штами були отриманні з лабораторії мікробіології Литовського харчового інституту (м. Каунас) та лабораторії мікробіології Технологічного інституту молока і м'яса УААН (м. Київ).

Для пересівання штамів лактококів у якості поживного середовища використовували свіже стерилізоване молоко. Штами лактококів зберігали при температурі 4 °С, їх пересіви проводили через кожні 20 днів. Усі використані у дослідженні реактиви були високої очистки (крім нижче описаних), вироблені в Україні.

### ***Визначення протеїназо-активних штамів лактококів та характеристика їх протеолітичної активності***

Для тестування штамів молочнокислих бактерій на наявність приклітинних протеїназ нами був обраний метод, в основі якого – визначення концентрації продуктів протеолізу при вирощуванні штаму протягом короткого періоду часу у стерильному знежиреному молоці. Мезофільні лактококи інкубували протягом 12 годин при температурі 30 °С, наявність приклітинної протеїнази визначали за концентрацією продуктів протеолізу.

Протеолітичну властивість лактококів визначали за методом Залашко М. В., який був описаний раніше [57], але з незначними модифікаціями. До 1.5 мл нативного молочного середовища ми додавали 1 мл води і 5 мл 10 % розчину ТХО. Суміш перемішували протягом 10 хв і відфільтровували. До фільтрату об'ємом 2,5 мл додавали 5 мл 10 % натрій карбонату, ретельно перемішували і додавали 1 мл реактиву Фоліна. Все це залишали на 45 хв, після чого вимірювали оптичну густину на спектрофотометрі СФ-26 при довжині хвилі 650 нм.

Отримані значення оптичної густини перераховували на вміст тирозину і триптофану за калібрувальним графіком (в мг %).

### ***Характеристика біохімічних показників лактококів***

***Концентрацію молочної кислоти*** визначали за даним методом [58] і виражали у градусах Тернера (°Т).

***Стійкість лактококів до NaCl*** визначали при їх вирощуванні у стерилізованому знежиреному молоці в присутності різних концентрацій NaCl. Кількісно стійкість лактококів визначали за відсотком приросту титрованої кислотності у дослідних зразках у порівнянні з контрольним за формулою:

$$П = (T_0 - T_M) / (T_K - T_M) * 100$$

де  $T_0$  – титрована кислотність поживного середовища з NaCl  $^0T$ ;

$T_M$  – початкова титрована кислотність молока  $^0T$ ;

$T_K$  – титрована кислотність поживного середовища без NaCl,  $^0T$ ;

Кількість утворених лактококами діацетилу, ацетоїну та вуглекислого газу визначили загальноприйнятими методами [58].

### ***Диск-електрофорез білків казеїнового комплексу***

Проводили в нативних умовах для кислих і нейтральних білків анодної диск – ПААГ системи. Різні варіанти цієї системи є описані раніше. Виготовляли концентруючий та розділюючий гелі використовуючи наступні розчини та їх об'ємні співвідношення. Деякі незначні зміни у порівнянні з методикою Б.Девіса були внесені у склад концентруючого гелю.

#### ***1. Складові розділюючого гелю (pH = 8,9).***

НСІ (1Н) – 24 мл	Акриламід (АА) – 15 г	Персульфат амонію (ПСА) – 0,065 г
Тріс – 18,3 г	Метиленбісакриламід (МБА) – 0,4 г	-
ТЕМЕД – 0,15 мл	-	-
до 50 мл H <sub>2</sub> O	до 50 мл H <sub>2</sub> O	до 50 мл H <sub>2</sub> O
1 частина	2 частини	5 частин

#### ***2. Складові концентруючого гелю (pH = 6.9).***

НСІ (1Н) – 24 мл	АА – 5 г	Сахароза – 20 г	ПСА – 0,065 г
Тріс – 2,99 г	(МБА) – 1,25 г	-	-
ТЕМЕД – 0,23 мл	-	-	-
до 50 мл H <sub>2</sub> O	до 50 мл H <sub>2</sub> O	до 50 мл H <sub>2</sub> O	до 20 мл H <sub>2</sub> O
1 частина	2 частини	4 частини	1 частина

#### ***3. Електродний буфер (pH = 8,3).***

Тріс – 2,99 г; гліцин – 28,9 г (до 100 мл H<sub>2</sub>O).

Електрофоретичне розділення отриманих зразків проводили в трубочках приладу фірми Reanal (Угорщина).



## **Статистична обробка результатів дослідження**

Усі експерименти ми повторювали 3–5 разів, а у роботі наведені середні значення величин та стандартні похибки ( $M \pm m$ ). Статистичний аналіз здійснювали користуючись критерієм Стьюдента ( $t$ ), а статистичну обробку даних проводили за допомогою програми Microsoft Excel 2003. Дані вважалися вірогідними при  $p < 0,05$ .

### **3.3 Результати досліджень**

#### **3.3.1 Визначення протеолічної активності та**

#### **загальна характеристика протеїназо-позитивних штамів**

Перший етап. Досліджували здатність розщеплювати білки та активність приклітинних протеїназ – протеїназо-позитивні штами або prt<sup>+</sup>. На сьогодні відомо методи визначення протеїназо-позитивних штамів, які включають: дослідження здатності штамів рости на агарових пластинках з очищеними білками молока або в рідкому середовищі та безпосереднє визначення приклітинних протеїназ імунохімічними методами з використанням специфічних антитіл [59]. Для тестування штамів нами був обраний метод визначення продуктів протеолізу у процесі вирощування штаму молочнокислих бактерій протягом нетривалого проміжку часу у стерильному знежиреному молоці. У такому випадку, на думку спеціалістів, протеоліз проходить тільки за рахунок приклітинних протеїназ бактерій.

Протеолітичну активність мезофільних лактококів ми визначали за концентрацією продуктів протеолізу після їх інкубування у знежиреному молоці при таких параметрах: температура 30 °С, час 12 годин. Молоко засіювали трьома відсотками свіжої культури кожного штаму. Концентрацію продуктів протеолізу визначали у мг% тирозину і триптофану у складі пептидів та амінокислот, що не осаджувались 10 % ТХО. Результати досліджень подані у таблиці 3.3.

Усього було проведено дослідження девяти штамів мезофільних лактококів. Один із штамів (*Lcc.lactis subsp.lactis* 1<sub>46</sub>) виявився протеїназо-

негативним. Концентрація продуктів протеолізу та амінокислот при їх інкубації у знежиреному молоці зменшувалась. Це засвідчило, що лактококи у процесі росту використовували протеозно-пептонну фракцію молока як субстрат. В одному випадку *Lcc.lactis biovar diacetylactis* приріст концентрації продуктів протеолізу у середовищі уже після інкубації був дуже низьким. Що свідчить про відсутність приклітинних протеїназ у даному штамі. Однак, необхідно зазначити, що такі 4 штами (l<sub>41</sub>, l<sub>43</sub>, c<sub>34</sub>, d<sub>32</sub>) характеризуються досить високою активністю приклітинних протеїназ.

**Таблиця 3.3** Протеолітична активність штамів молочнокислих бактерій після інкубації у знежиреному стерилізованому молоці протягом 10 годин

№ п/п	Вид і підвид молочнокислих бактерій	Умовна назва	Протеолітична активність (12 год інкубації) мг%*	Наявність (+) або відсутність (-) приклітинної протеїнази**
1.	<i>Lcc.lactis subsp.lactis</i>	l <sub>41</sub>	-0,06	?
2.	<i>Lcc.lactis subsp.lactis</i>	l <sub>43</sub>	2,92	+
3.	<i>Lcc.lactis subsp.lactis</i>	l <sub>46</sub>	2,74	+
4.	<i>Lcc.lactis subsp.cremoris</i>	c <sub>37</sub>	0,10	+
5.	<i>Lcc.lactis subsp.cremoris</i>	c <sub>39</sub>	0,48	+
6.	<i>Lcc.lactis subsp.cremoris</i>	c <sub>34</sub>	1,77	+
7.	<i>Lcc.lactis biovar diacetylactis</i>	d <sub>30</sub>	0,78	+
8.	<i>Lcc.lactis biovar diacetylactis</i>	d <sub>31</sub>	0,09	+
9.	<i>Lcc.lactis biovar diacetylactis</i>	d <sub>32</sub>	1,48	+

\*Подані середні значення трьох визначень для кожного штаму.

\*\*Знак запитання – це сумнівність наявності приклітинної протеїнази у штаму.

Усі штами були використані при наступних дослідженнях їхніх біохімічних властивостей. Штами підтримувались пересівом у стерилізоване знежирене молоко. У такому поживному середовищі штами можуть рости маючи

різний склад протеолітичних систем – навіть протеїназо-негативні. Вони використовують пептиди та амінокислоти, які є в молоці, для активної життєдіяльності.

Для 3 відібраних штамів лактококів: *Lcc.lactis subsp.lactis* 1<sub>43</sub>, *Lcc.lactis subsp.cremoris* c<sub>39</sub>, *Lcc.lactis biovar diacetylactis* d<sub>31</sub> визначали протеолітичну активність на різних стадіях культивування. Концентрацію продуктів протеолізу визначали у мг% тирозину і триптофану у складі пептидів та амінокислот, які не осаджувались 10 % ТХО. Результати досліджень подані у таблиці 3.4.

**Таблиця 3.4** Протеолітична активність вибраних штамів лактококів

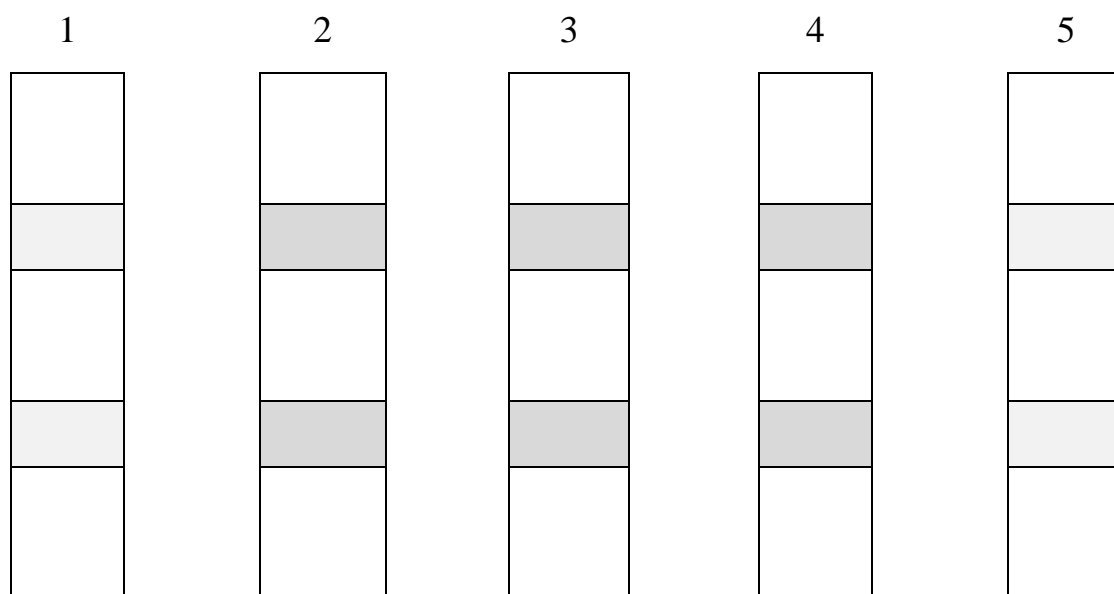
Штами лактококів	Концентрація продуктів протеолізу (мг% тирозину + триптофану) на різних стадіях культивування				
	24 год	72 год	120 год	168 год	30 днів
<i>Lcc.lactis subsp.lactis</i> <sub>2</sub>	6,4±0,12	8,4±0,14	9,3±0,011	9,8±0,13	14,7±0,30
<i>Lcc.lactis subsp.cremoris</i> <sub>2</sub>	0,9±0,05	0,5±0,02	0,6±0,03	0,7±0,05	3,9±0,12
<i>Lcc.lactis biovar diacetylactis</i> <sub>2</sub>	0,03±0,001	2,5±0,08	2,7±0,09	2,8±0,09	4,6±0,11

З даних таблиці видно, що за протеолітичною активністю штами лактококів різняться. Так, найвищою активністю характеризується *Lcc.lactis subsp.lactis* 1<sub>43</sub>: через добу концентрація продуктів протеолізу є вищою, ніж в інших штамів. Протягом місяця цей показник лише збільшується і через 30 діб сягає 14,7 мг%.

Визначення специфічності протеолізу для окремих фракцій казеїнового комплексу здійснювали електрофоретичний аналіз відібраних ліофілізованих зразків культурального середовища на пластинах ПААГ. Кожен зразок після осадження білків кількістю 70 мг розчиняли в 1,5 мл подвійного електрофоретичного буферу та 1 мл води, після цього додавали сахарозу і бромфеноловий синій. Потім отриманий розчин центрифугували (3000 g, 5 хв) і

фільтрували. У комірці гелю вносили по 15 мкл зразку. Для контролю використовували стерилізоване молоко, яке підкислювали оцтовою кислотою (до pH = 4,6). Результати електрофорезу подані на рис. 3.1.

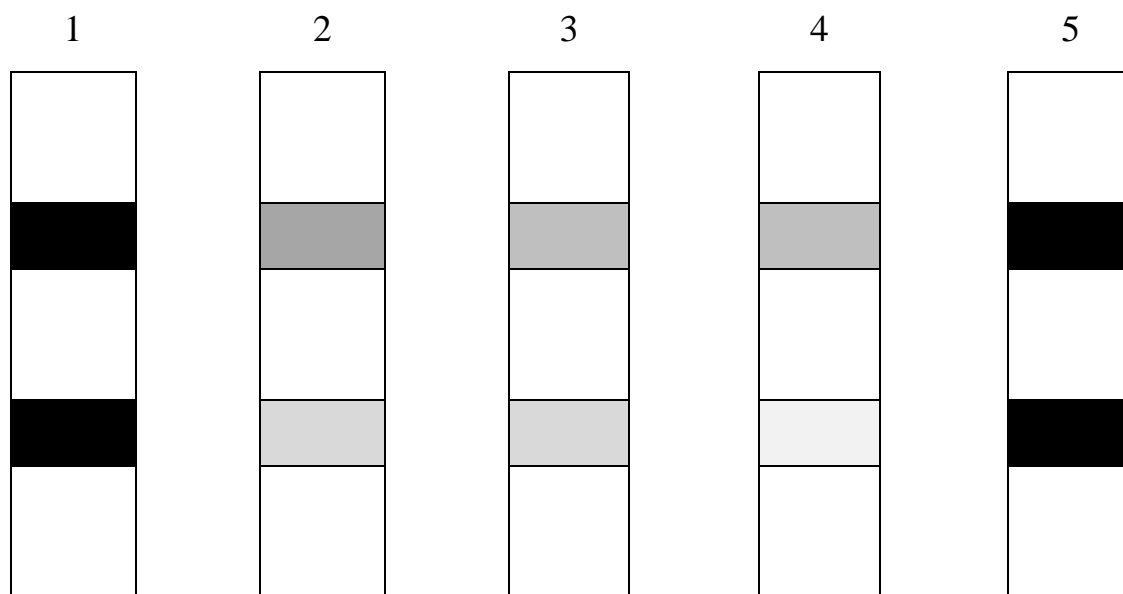
На рисунку видно, що електрофореграми контрольного зразка знежиреного молока досить суттєво різняться від електрофореграми контрольного загального казеїну (рис. 3.1 (1)). На ньому майже немає фракції к-казеїну та мінорні фракції  $a_{s2}$ -казеїнів. Після проведення стерилізації на електрофореграмі видно збільшення кількості білків, які відповідають за електрофоретичною рухливістю  $\beta$ -казеїну.



Вище зазначені зміни можуть відбуватись через утворення компонентів к-казеїну і  $a_{s2}$ -казеїнів з  $\beta$ -лактоглобуліном, що супроводжується утворенням дисульфідних зв'язків. Такі комплекси навіть можуть мати електрофоретичну рухливість, яка подібна до  $\beta$ -казеїну. Ще однією причиною може бути теплове дефосфорилування  $a_{s2}$ -казеїнів, яке може спонукати до зменшення електрофоретичної рухливості та утворення розмитих полосок на електрофореграмах. Щодо протеолізу, то можна відзначити відсутність значної

кількості певних продуктів розщеплення казеїну, що могли б утворювали нові полоски на електрофореграмах. Не видно змін і у співвідношеннях головних функцій протягом 7 днів інкубації.

Трішки вищу розмитість головних фракцій можна спостерігати при інкубації штаму  $l_{43}$  протягом 7 днів. Якщо врахувати, що кількість білків взята в кожному електрофоретичному зразку була однаковою, то така розмитість може бути спричинена великими пептидами, що теж осаджуються кислотою. Більші помітні зміни виявлені при використанні іншого способу приготування електрофоретичних зразків – без осадження білків. У цьому випадку усі білки і продукти протеолізу – пептиди різної величини, у зразках для електрофорезу залишаються. При цьому для контролю було висушене стерилізоване ліофільно знежирене молоко. Електрофоретичний зразок готували так: до 90 мг висушеного білка додавали 1 мл буферу, 1 мл води, сахарози і бромфенолового синього. Його центрифугування протягом 5 хв при 3000 обертах і після цього фільтрували. У комірку зразку вносили 15 мкл гелю. Результати електрофорезу представлені на рисунку 3.2.



**Рис. 3.2.** Схема електрофореграми контрольних білків, осаджених зі знежиреного стерилізованого молока (1), казеїну (5), і білків осаджених із культурального середовища після протеолізу протягом 30 днів лактококами штамів  $l_{43}$  (2),  $d_{31}$  (3),  $c_{39}$  (4).

Помітніші зміни у білкових фракцій на електрофореграмах виявляються вже після інкубації штамів протягом 30 днів. Зниження інтенсивності забарвлення двох основних фракцій, які відповідають за електрофоретичною рухливістю  $\alpha_{s1}$ -казеїну та  $\kappa$ -казеїну у порівнянні з контрольним виявлено при інкубації усіх штамів, а особливо штаму  $I_{43}$  узгоджується з даними, отриманими при визначенні протеолітичної активності вище згаданих штамів (таблиця 3.2). Однак, кількісна оцінка отриманих електрофореграм дещо ускладнюється через використання у цих дослідах стерилізованого молока. У ньому різні білки утворюють агрегати, відбувається дефосфорилування казеїнів та руйнування олігосахаридних груп  $\kappa$ -казеїнів, внаслідок чого електрофореграма казеїнів змінюється. Одна частина білків сироватки може перебувати у складі агрегатів з  $\kappa$ -казеїнами та  $\alpha_{s2}$ -казеїнами, а інша частина – може денатурувати, утворюючи нерозчинні агрегати та втрачатись у процесі центрифугування і фільтрування зразка. Проте, отримані результати дозволяють зробити припущення, що за період інкубації відбулось розщеплення  $\alpha_{s1}$ -казеїнів і  $\beta$ -казеїнів. Щодо  $\kappa$ - і  $\alpha_{s2}$ -казеїнів, то однозначного висновку зробити неможна. Тобто, для точнішого встановлення специфічності протеолізу для окремих функцій білків необхідно спростити схему для протеолізу та інтенсифікувати сам протеоліз.

### 3.3.2 Біохімічні властивості штамів лактококів

#### *Утворення молочної кислоти. Кислотна коагуляція казеїнів*

Для характеристики кислотоутворювальної активності відібраних протеїназо-позитивних лактококів ми визначали титровану кислотність (в градусах Тернера) та активну кислотність (в одиницях рН) через відповідну кількість годин (6, 24, 48, і 168 год) і культивували їх у стерилізованому знежиреному молоці за температури 30 °С. Для кожного штаму разом із дослідженням титрованої та активної кислотності ми визначали час коагуляції та утворення згустку казеїнів. Результати визначень подані у таблиці 3.5.

Отримані результати свідчать що найбільш активними кислотоутворювачами є штами підвидів *Lcc.lactis subsp.lactis*  $I_{43}$  і  $I_{46}$  та *Lcc.lactis*

*subsp.cremoris* с<sub>34</sub>. Ці штами характеризуються також високою початковою швидкістю кислотоутворення (за 6 год), значення якої відповідно – 43-57 °Т (*subsp.lactis*) та 42 °Т (*subsp.cremoris*).

З усіх досліджуваних штамів до активних кислотоутворювачів можна віднести третину (це вказані раніше штами). У них була визначена титрована кислотність 97-100 °Т (через 24 год інкубації) та 102-106 °Т (через 48 год). Граничне кислотоутворення (через 168 год) в активних штамів *Lcc.lactis subsp.lactis* становить 110-118 °Т, а в *Lcc.lactis subsp.cremoris* с<sub>34</sub> 109 °Т. Два інші штами *Lcc.lactis subsp.cremoris* – с<sub>37</sub> і с<sub>39</sub> – є менш активними кислотоутворювачами і характеризуються дещо нижчою кислотоутворюваністю. Їх початкова швидкість (6 год) коливається у межах 28-31 °Т, а гранична кислотоутворюваність 98-101 °Т.

**Таблиця 3.5** Утворення молочної кислоти штамми лактококів  
( $M \pm m$ , n=3).

Штами лакто- коків	Титрована кислотність, °Т через				Активна кислотність, рН через		Час кислотної коагуляції казеїну, год
	6 год	24 год	48 год	168 год	24 год	168 год	
l <sub>41</sub>	30±1,4	62±1,8	76±2,2	97±2,6	5,11±0,06	4,57±0,05	22,0±1,4
l <sub>43</sub>	57±2,6	100±2,6	106±2,4	118±2,3	4,48±0,06	4,23±0,05	9,1±0,5
l <sub>46</sub>	43±1,5	97±3,7	102±2,4	110±2,9	4,63±0,06	4,35±0,05	9,6±0,3
с <sub>37</sub>	28±1,1	58±2,0	87±2,1	101±2,8	5,26±0,05	4,45±0,04	24,5±0,9
с <sub>39</sub>	31±1,0	67±1,3	88±2,0	98±2,8	4,98±0,03	4,49±0,07	18,6±0,8
с <sub>34</sub>	42±2,2	98±4,1	106±2,1	109±3,9	4,56±0,06	4,39±0,06	9,6±0,8
d <sub>30</sub>	34±1,2	64±2,8	71±2,0	97±3,0	5,13±0,06	4,57±0,06	22,1±1,2
d <sub>31</sub>	33±2,0	66±2,2	79±2,8	97±3,2	5,12±0,03	4,58±0,05	18,6±0,5
d <sub>32</sub>	34±1,4	64±2,2	80±2,9	104±3,2	5,18±0,05	4,49±0,05	22,1±1,1

В штамів *Lcc.lactis biovar diacetylactis*, які були використані у нашій роботі виявлено меншу швидкість кислотоутворення (до 34 °Т) і граничного кислотоутворення (97-104 °Т).

Визначення часу кислотної коагуляція казеїнів засвідчило, що активні штами після утворення молочної кислоти (I<sub>43</sub> , I<sub>46</sub> , c<sub>34</sub>) спричиняють коагуляцію казеїнів за 9-9,6 годин. Інші відібрані штами можуть коагулювати казеїн знежиреного молока протягом 18,6-24,5 годин.

Якщо порівнювати протеолітичні властивості та швидкість кислотоутворення, то можна побачити між цими властивостями молочнокислих бактерій певний взаємозв'язок. Так, *Lcc.lactis subsp.lactis* I<sub>41</sub> фактично не володіє протеолітичною активністю і швидкість кислотоутворення у нього нижча. *Lcc.lactis subsp.lactis* I<sub>43</sub> і I<sub>46</sub> характеризується і високою протеолітичною активністю, і високою швидкістю кислотоутворення. Те саме можна сказати і про штами *Lcc.lactis subsp.cremoris*. : активніший протеолітичний штам c<sub>34</sub> має більшу швидкість утворення молочної кислоти.

#### **Утворення діацетилу та ацетоїну.**

Важлива властивість лактококів *Lcc.lactis subsp.cremoris* та *Lcc.lactis biovar diacetylactis* – здатність утворювати діацетил та ацетоїн. Штами *Lcc.lactis biovar diacetylactis* утворюють ще й вуглекислий газ, який накопичується у розсолі. Діацетил та ацетоїн впливають на смак і запах харчового продукту. У зв'язку з цим ми досліджували відповідні штами на здатність утворювати діацетил та ацетоїн та вуглекислий газ. Результати цих досліджень подає у таблиці 3.6.

**Таблиця 3.6** Утворення діацетилу, ацетоїну та вуглекислого газу  
штамами лактококів

Штами <i>Lcc.lactis</i> <i>subsp.cremoris</i>	Утворення діацетилу та ацетоїну	Штами <i>Lcc.lactis</i> <i>biovar</i> <i>diacetylactis</i>	Утворення	
			діацетилу та ацетоїну	вуглекислого газу
c <sub>37</sub>	+	d <sub>30</sub>	+	+
c <sub>39</sub>	–	d <sub>31</sub>	++	+
c <sub>34</sub>	+	d <sub>32</sub>	+	+



Нами встановлено, що усі штами *Lcc.lactis subsp.cremoris*, окрім с<sub>39</sub>, продукують діацетил та ацетоїн. Серед лактококів *Lcc.lactis biovar diacetylactis* усі штами продукують діацетил та ацетоїн, а d<sub>31</sub> – навіть у великих кількостях. При цьому яскраво-рожеве забарвлення в реакційному середовищі виявляється вже через 7-10 хв (++)), а при дослідженні двох інших штамів – через 10-15 хв (+). Усі досліджувані штами *Lcc.lactis subsp.lactis* показали негативний результат при тестуванні на діацетил та ацетоїн.

У всіх штамів *Lcc.lactis biovar diacetylactis* була виявлена здатність утворювати вуглекислий газ. Отримані результати про фізіологічні властивості лактококів досліджуваних видів співпадають з даними досліджуваних видів, отриманими іншими авторами.

### **Стійкість штамів лактококів до дії кухонної солі.**

При виробництві квашених овочів розвиток молочнокислих бактерій відбувається у присутності кухонної солі. Для цього використовують різні концентрації солі у розчинах, від 2 до 10 %. Наприклад, у виробництві квашеної капусти виготовляють 2,5-4,0 % розчин солі. Відповідно, важливою характеристикою штамів є стійкість до дії солі у середовищі. Штами, ріст яких гальмується 2 % концентрацією NaCl, не можна використовувати у складі стартових культур у виробництві квашених овочів.

Стійкість лактококів до дії солі визначали як відсоток приросту титрованої кислотності в культурному середовищі з NaCl порівняно з контролем, який не містив солі. Результати дослідження розвитку підібраних штамів лактококів у присутності різних концентрацій солі наведені в таблиці 3.7.

**Таблиця 3.7** Вплив NaCl на розвиток протеїназо-позитивних лактококів

Штами лакто- коків	Концентрація NaCl					
	2		4		6,5	
	Тривалість тестування (год)					
	6	24	6	24	6	24
l <sub>41</sub>	92	89	63	42	42	21
l <sub>43</sub>	80	47	44	26	44	12

l <sub>46</sub>	93	42	64	28	15	9
c <sub>37</sub>	91	14	91	13	51	13
c <sub>39</sub>	91	43	71	15	49	13
c <sub>34</sub>	97	78	78	57	41	32
d <sub>30</sub>	89	87	63	30	26	8
d <sub>31</sub>	99	80	64	58	30	5
d <sub>32</sub>	99	89	63	50	49	16

Проведені нами дослідження показали, що:

- ✓ більшість протеїназо-позитивних штамів (окрім c<sub>37</sub> і c<sub>39</sub>) стійкі до дії 2 % концентрації NaCl;
- ✓ найстійкішими до 4 % NaCl виявились штами *Lcc.lactis biovar diacetylactis*; найменш стійкими – *Lcc.lactis subsp.cremoris*. Розвивався лише один штам – c<sub>34</sub> ;
- ✓ концентрація 6,5 % NaCl пригнічує ріст усіх досліджуваних штамів. Незначний ріст ми спостерігали тільки у штаму c<sub>34</sub>.

Пригнічення розвитку досліджуваних штамів у присутності 4 % NaCl відбувається нерівномірно у часі: на початковому етапі розвитку (6 год) для *Lcc.lactis subsp.cremoris* характерні незначні різниці титрованої кислотності культурного середовища у дослідних зразках порівняно до контрольними. Ці різниці суттєво зростають через добу (24 год). Така ж закономірність виявляється при дослідженні штамів *Lcc.lactis subsp.lactis*. Штами *Lcc.lactis biovar diacetylactis* характеризуються високою стійкістю до NaCl на початковому етапі розвитку і після доби культивування.

Отже, штами *Lcc.lactis biovar diacetylactis* мають більшу стійкість до солі, ніж інші різновиди лактококів, а штами c<sub>37</sub> і c<sub>39</sub> не можна використовувати для квашення овочів.

## РОЗДІЛ 4 ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

### 4.1 Охорона праці

#### *4.1.1 Відповідальність працівників за порушення законодавства про охорону праці*

У відповідності з законом України „Про охорону праці” є розділ 8 „Відповідальність за порушення законодавства про охорону праці”. В ньому є стаття 44 „Відповідальність за порушення вимог щодо охорони праці”. Вона говорить: за порушення законів та інших нормативно-правових актів про охорону праці, створення перешкод у діяльності посадових осіб органів державного нагляду за охороною праці, а також представників профспілок, їх організацій та об’єднань винні особи притягуються до дисциплінарної, адміністративної, матеріальної, кримінальної відповідальності згідно із законодавством.

**Дисциплінарна відповідальність** – настає за порушення правил і норм з охорони праці, які не мають за собою важких наслідків і не могли вони бути. Притягнення до дисциплінарної відповідальності виражається в оголошенні винній особі дисциплінарного стягнення: це догана і звільнення з роботи (ст. 147 КЗПП). Дисциплінарне стягнення застосовується роботодавцем або уповноваженим органом безпосередньо за виявленням проступку, але не пізніше 1-го місяця з дня його виявлення, не рахуючи часу звільнення працівника від роботи у зв’язку з тимчасовою непрацездатністю або перебуванням його у відпустці. Дисциплінарне стягнення не може бути накладене пізніше 6-ти місяців з дня вчинення проступку (ст. 148 КЗПП).

До того, як накласти дисциплінарне стягнення, роботодавець, або уповноважений ним орган, повинен зажадати від винного працівника письмового пояснення. В тому випадку, коли працівник відмовляється дати пояснення, про це повинен бути складений акт за підписом посадової особи і

працівників підприємства, що були свідками цієї відмови. За кожне порушення трудових обов'язків може бути застосоване лише одне дисциплінарне стягнення.

**Адміністративна відповідальність** – настає за будь-які посягання на загальні умови праці, крім випадків, коли з одного боку, такі порушення не тягнуть за собою кримінальної відповідальності, з іншого – відсутні підстави для звільнення від адміністративної відповідальності за правопорушення. Адміністративна відповідальність виражається в положенні на винних осіб грошових штрафів. Право накладання штрафів мають державні інспектора Держгірпромнагляду за охороною праці.

**Матеріальна відповідальність** – накладається на працівника тоді коли є наявність прямої дійсної шкоди, вина працівника (у формі умислу або необережності), протиправні дії (бездіяльність) працівника, а також наявність зв'язку між винним і протиправними діями працівника та завданого шкодою. Притягнення працівника до кримінальної, адміністративної чи дисциплінарної відповідальності за дії, якими заподіяно шкоду, не звільняє його від матеріальної відповідальності. При наявності в діях ознак злочину на працівника може бути покладено повну матеріальну відповідальність, а при відсутності таких ознак на працівника покладається обмежена відповідальність в межах його середньомісячного заробітку. Матеріальна відповідальність буває повна, часткова, індивідуальна, колективна.

**Кримінальна відповідальність** – за порушення правил охорони праці передбачених статтями 135, 218, 219 і 220 Кримінального кодексу України. Кримінальна відповідальність настає не за будь-яке порушення, а за порушення вимог законодавства та інших нормативно-правових актів про охорону праці, якщо це порушення створювало небезпеку для життя або здоров'я громадян.

Стаття 135 передбачає таку міру покарання, як виправні роботи, або штраф до 15 мінімальних розмірів заробітної плати. Діяння, що спричинили людські жертви, або інші тяжкі наслідки, карається позбавленням волі на термін до 8 років.

Стаття 219 передбачає кримінальну відповідальність за порушення правил проведення будівельних робіт, а також порушення правил експлуатації будівельних механізмів, якщо воно заподіяло шкоду здоров'ю людей, або могло спричинити людські жертви чи інші тяжкі наслідки, у вигляді позбавлення волі на термін до 1-го року, виправних робіт на той же термін або штрафу до 20-ти мінімальних розмірів заробітної плати.

Стаття 220 передбачає за порушення виробничо-технічної дисципліни, або правил, що забезпечують безпеку виробництва на вибухонебезпечних підприємствах, позбавлення волі на термін до 1-го року, або виправними роботами на той же термін, чи штрафом у розмірі до 25-ти мінімальних розмірів заробітної плати.

Теж саме діяння, якщо воно спричинило людські жертви, або інші тяжкі наслідки, карається позбавленням волі на термін до 10-ти років.

#### ***4.1.2 Причини та характер забруднення повітря робочої зони***

Однією з необхідних умов здорової та високопродуктивної праці на виробництві є забезпечення чистоти повітря та нормальних метеорологічних умов у робочій зоні. Умови праці на виробництві визначаються з однієї сторони – трудовим процесом, а з другої сторони – санітарно-гігієнічною обстановкою, в якій проходить трудовий процес.

Трудовий процес супроводжується головним чином м'язовим і нервовим напруженням. Це напруження знаходиться в залежності від виду роботи, швидкості її виконання, положення тіла при виконанні роботи.

Санітарно-гігієнічна обстановка, яка визначає умови праці, характеризується: метеорологічними умовами (  $t$ ;  $\%$ ,  $v$  ), концентрацією пилу та газів в повітрі приміщення, наявністю шуму та вібрації, освітлення приміщення.

Організм людини реагує на ті всі подразнення, які виникають в умовах виробництва. Всі порушення нормальної роботи організму за певний час роботи проводить до різних захворювань. Тому потрібно чітко та ясно знати і вивчати

умови праці людини та щоденно їх покращувати і полегшувати. Це є завдання роботи керівника на виробництві.

Трудовий процес проходить у робочій зоні. Робочою зоною вважається простір, в якому знаходяться робочі місця постійного або непостійного (тимчасового) перебування працівників. Робоче місце – місце постійного або тимчасового перебування працюючого в процесі трудової діяльності.

Повітря робочої зони зазвичай має змінний хімічний склад, так як багато технологічних процесів супроводжується виділенням в повітря виробничих приміщень (в робочу зону) шкідливих парів, газів, твердих і рідких частинок.

Нормальне атмосферне повітря у своєму складі має: (% за об'ємом) – азоту – 78,08 %, кисню – 20,95 %, аргону, неону та інших інертних газів – 0,93 %, вуглекислого газу – 0,03 %, інших газів – 0,01 %. Повітря такого складу є найбільш сприятливе для дихання людини.

Важливо також, щоб повітря мало певний іонний склад. В повітрі є додатні та від'ємні іони, які за рухливістю розділяються на легкі, середні та важкі. Важкі іони утворюються в результаті осідання легких іонів на різні частинки: на пилинки, на каплі туману і т.п. В чистому (не забрудненому) повітрі знаходяться переважно легкі іони, а в забрудненому – важкі іони. На життєдіяльність організму людини сприятливо впливають від'ємні іони кисню повітря.

На якість нашого життя, на наше здоров'я, самопочуття впливає в значній мірі навколишнє середовище, в якому ми живемо. Є такі місця, де ми відчуваємо себе особливо добре: гори, хвойні ліси, морські побережжя, неподалік водоспадів. В цих місцях клімат характеризується природнім, з найбільш оптимальною для нашого організму рівновагою іонів, а також більш насиченим від'ємними іонами повітря. Життя в середовищі, де недостатня кількість від'ємних іонів, завмирає, тому їх по праву називають „вітамінами повітря”.

Динамічні перетворення навколишнього середовища (які зараз відбуваються) в великій степені впливають на природну, необхідну для життя людини, рівновагу іонів в повітрі. Промислові забруднення, асфальт, бетон, недостатність зелених насаджень, центральне опалення в квартирах, пластмаса,

електронні та електричні іони, поїздка в поїздах – все це веде до того, що ми постійно становимось жертвами наступу позитивних (+) іонів. Перебування в такому середовищі викликає у більшості людей слабкість, стурбованість, депресію, безсоння, мігрень, прояви алергії, ускладнене (важке) дихання, сповільнена реакція і т.п.

Тому ми повинні старатись виправити якість навколишнього повітря. Коли ми оточимо себе рослинами, предметами з натуральних матеріалів, будемо частіше провітрювати приміщення, то це в певній мірі нам допоможе.

Причини виділення пилу на виробництві можуть бути самі різні. Пил утворюється при дробленні та розмеленні, транспортуванні сипких матеріалів, механічному обробленні крихких матеріалів, обробленні поверхні (шліфування, глянцування), при упакуванні чи розфасуванні і т.п. Ці причини пилоутворення є основними або первинними. В умовах виробництва виникають і вторинні пилоутворення – це при прибиранні приміщень, при пересуванні транспорту, при руху людей і т.п.

Дим виникає при згоранні палива в печах і електроустановках; туман – при використанні змащувально-охолоджувальних рідин (ЗОР), в гальванічних і травильних цехах – при обробленні металу.

Шкідливі речовини проникають в організм людини головним чином через дихальні шляхи, а також через шкіру та з їжею. Більшість цих речовин відносяться до небезпечних і шкідливих виробничих факторів, бо вони спричиняють токсичну дію на організм людини. Ці речовини добре розчиняються в біологічному середовищі, вони мають здатність вступати з ним у взаємодію та викликати порушення нормальної життєдіяльності.

Пари, гази, пил при концентраціях, які перевищують ГДК, можуть поражати різні органи людини або діяти лише на певні органи чи фізіологічну систему людини – нервову систему, нирки, печінку, шкіру, слизові оболонки. В результаті їх дії у людини виникає хворобливий стан – чи отруєння, небезпека якого залежить від виду речовини, від часу її дії, від концентрації мг/м<sup>3</sup>.

**Шкідлива речовина** – це така речовина, яка при контакті з організмом людини, може спричиняти виробничі травми, професійні захворювання чи відхилення в стані здоров'я, які виявляються сучасними методами як в процесі роботи так і у віддалені строки життя теперішнього та наступних поколінь.

За характером дії на організм людини шкідливі речовини поділяються на:

- **загально токсичні** – які викликають отруєння всього організму (окис вуглецю, сполуки ціаніду, свинець, ртуть, бензен, миш'як і т.п.);

- **подразнюючі** – які викликають подразнення дихальних шляхів і слизових оболонок (це хлор, аміак, сірчистий газ, окисли азоту, озон, ацетон і т.п.);

- **сенсibiliзуючі** – які діють як алергени (формальдегід, різні розчинники та лаки на основі нітросполук і т.п.);

- **канцерогенні** – які викликають ракові захворювання (нікель та його сполуки, аміни, окисли хрому, пил азбесту, продукти нафтопереробної та нафтохімічної промисловості – мазут, гудрон, нафтовий кокс, бітум, сажа);

- **мутагенні** – які призводять до зміни інформації в організмі людини про потомство (свинець, марганець, отрутохімікати, радіоактивні речовини і т.п.).

Багато технологічних процесів проходить з виділенням в повітря виробничих приміщень (в робочу зону) пари, пилу, твердих і рідких частинок, надлишків тепла і т.п.

Пари та гази утворюють з повітрям суміші, а тверді та рідкі частинки – аерозолі. Аерозолі в свою чергу діляться на:

- ✓ пил (розмір твердих частинок більше 1 мкм);
- ✓ дим (розмір твердих частинок менше 1 мкм);
- ✓ туман (розмір рідких частинок менше 10 мкм).

**За походженням пил буває:**

- ✓ **органічний:**
  - рослинний (бавовняний, лляний, дерев'яний, борошняний, кам'яно-вугільний, паперовий та ін.);
  - тваринний (вовняний, роговий, кістковий, волосяний);
  - штучний (органічних фарб, вибухових речовин тощо);



✓ **неорганічний:**

- металевий (міді, заліза, цинку, свинцю, марганцю і т.п.);
- мінеральний (кварцю, азбесту, графіту і т.п.);
- штучний (карборунд, цемент, сода, скло);
- змішаний;
- з різних видів пилю.

*За розміром частинок пил буває:*

- ✓ крупно дисперсний (розмір частинок більше 50 мкм);
- ✓ середньо дисперсний (розмір частинок в межах 50 – 10 мкм);
- ✓ дрібно дисперсний (розмір частинок менше 10 мкм).

*За вибухонебезпечністю пил буває:*

- ✓ вибухонебезпечний;
- ✓ вибухобезпечний.

Ряд шкідливих речовин діють на організм людини переважно фіброгенно, викликаючи подразнення слизових оболонок дихальних шляхів і осідають в легенях, практично не попадаючи в кровообіг. Це в основному пил металів – чавун, залізо, мідь, алюміній. Цей пил утворюється при металообробці, прокаті, штамповці, ливарному виробництві.

Найбільшу небезпеку створює мілко дисперсний пил. Такий пил не осідає в приміщенні, а знаходиться весь час в завислому стані та легко проникає в легені.

Дія шкідливих речовин в умовах високої температури, шуму чи вібрації значно збільшується та шкодить. Так при високій температурі повітря розширюються пори шкіри, збільшується потовиділення, частішає дихання, що прискорює проникнення шкідливих речовин в організм. В результаті дії шкідливих речовин на організм людини, можуть виникати професійні захворювання: при довготривалому вдиханні шкідливого пилю – пневмоконіози.

## 4.2 БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

### Запобігання наслідкам аварій на виробництвах із застосуванням аміаку.

#### Вплив аміаку на організм людини

**Аміак** – це сильно діюча отруйна речовина (СДОР), відноситься до 4 класу небезпеки, володіє сильною токсичною дією на організм людини. Аміак діє на слизові оболонки верхніх дихальних шляхів та очей. У разі легкого отруєння з'являються сухість, першіння та біль у горлі, чхання, кашель, захриплість, легка нудота. Гостре отруєння аміаком викликає утруднене дихання, сильний кашель, задуха, блювоту, втрату голосу, спазм голосової щілини, запаморочення, почервоніння обличчя, пітливість, сльозотечу, набряк повік. Поріг сприйняття аміаку нюхом – 0,037 мг/л. Концентрація аміаку, мг/л: викликає подразнення горла — 0,28, очей – 49, викликає кашель — 1,2, приводить до смертельного результату при впливі протягом 0,5 – 1 год – 4,5. Мінімально діюча концентрація 0,00035 мг/л. При тривалій роботі в атмосфері, що містить аміак, розвиваються різні хронічні захворювання: ринофаринголарингіт, ерозія, перфорація носової перегородки, трахеїт, бронхіт, пневмосклероз.

Ознаки отруєння різняться в залежності від кількості газу в повітрі. При вдиханні невеликої кількості речовини спостерігається різь в очах, їх почервоніння, кашель, біль у грудях, хрипи в легенях. Отруєння також супроводжують нудота, втома, депресія, головний біль. Більш високі концентрації посилюють вищеописані симптоми. Також можливе погіршення діяльності серця, набряк легенів, бронхопневмонія, порушену або, навпаки, непритомний стан, зниження тиску. Може збільшуватися печінка, підвищується температура тіла. Важке отруєння викликає втрату свідомості аж до коми. Проявляється судомами, галюцинаціями, порушенням дихання та роботи серця. При сприятливому результаті симптоматика змінюється глибоким сном. Пізніше розвивається астеничний синдром. При належному лікуванні він зникає, але в деяких випадках ускладнюється енцефалопатією

## **Перша допомога при отруєнні аміаком**

В першу чергу потрібно негайно захистити органи дихання від подальшої дії СДОР. Потім надягнути на потерпілого протигаз або ватно-марлеву пов'язку, попередньо змочивши її водою або 2% розчином питної соди у випадку отруєння хлором, а у разі отруєння аміаком – водою або 5% розчином лимонної кислоти. Винести потерпілого із зони зараження та забезпечити йому спокій і тепло.

Перша медична допомога ураженим СДОР в осередку хімічного ураження полягає у захисті органів дихання, видаленні та знезараженні стійких СДОР на шкірі, слизових оболонках очей, на одязі та негайній евакуації за межі зараженої зони.

При отруєнні хлором винести потерпілого із зони зараження При зупинці дихання зробити штучне дихання. Шкіру, рот, ніс промити 2% розчином питної соди або водою. При отруєнні аміаком винести потерпілого із зони зараження, шкіру, рот, ніс промити водою. В очі закапати по дві-три краплі 30% альбуциду, в ніс – оливкову олію. При необхідності відправити потерпілого до медичного закладу.

## **Профілактика уражень**

При ліквідації наслідків ХНА приймаються заходи, передусім, по обмеженню і призупиненню викиду (витоку) НХР, локалізації хімічного зараження, попередженню зараження ґрунту і ґрунтових вод. При виникненні нестерпного запаху усім обмежити перебування на вулиці, особливо дітям, особам похилого віку, з хронічними захворюваннями верхніх дихальних шляхів.

При подразненні слизових оболонок очей та носоглотки застосовувати засоби їх захисту (ватно-марлеві пов'язки, респіратори тощо). Використовувати змащення слизових носа олійними розчинами, дозволеними МОЗ України. Збільшити вживання кількості питної води. Частіше проводити обмивання зовнішніх покривів шкіри (обличчя, рук тощо).

## ВИСНОВКИ

Нами було розроблено проєкт цеху з виробництва сичужних сирів з організацією переробки сироватки, потужністю переробки незбираного молока 24 000 кг за зміну, м.ч.ж. незбираного молока 4.2%, виробництво здійснюється в одну зміну. Для цього були проведені технологічні розрахунки та складено схему та опис технології виробництва продуктів запланованого асортименту, розрахунок сировини і готової продукції, підбір та розрахунок технологічного обладнання, розрахунок виробничих площ для виробництва сичужних сирів та переробки сироватки. На графічних листах показано план цеху з виробництва сичужного сиру та переробленої сироватки, апаратурно–технологічну схему та графік організації виробничих процесів.

Проведений аналіз наукових джерел показав, що у технологіях молочних продуктів широке застосування набули мікроорганізми, які можуть продукувати протеази – протеїнази та пептидази. Протеази сприяють первинному розщепленню білків казеїнів та звільненню амінокислот з екзогенних пептидів. Тому у процесі підбору видового складу заквасок ми застосовували систематизовані характеристики протеїназ і пептидаз різних мікроорганізмів, з метою забезпечення якісних органолептичних показників молочних продуктів та утворення біологічно активних пептидів.

Нами досліджувалась протеолітична активність дев'яти штамів мезофільних лактококів на різних стадіях культивування, з яких були відібрані три штами: *Lcc.lactis subsp.lactis* l<sub>43</sub>, *Lcc.lactis subsp.cremoris* c<sub>39</sub>, *Lcc.lactis biovar diacetylactis* d<sub>31</sub>. Було встановлено, що найвищою активністю характеризується *Lcc.lactis subsp.lactis* l<sub>43</sub>, у якого вже через добу концентрація продуктів протеолізу була вищою, ніж в інших штамів, а протягом місяця цей показник лише збільшувався. Отримані результати дозволяють зробити припущення, що за період інкубації відбулось розщеплення  $\alpha_{s1}$ -казеїнів і  $\beta$ -казеїнів, а от щодо  $\kappa$ -і  $\alpha_{s2}$ -казеїнів, то однозначного висновку зробити неможна. Тобто, для точнішого встановлення специфічності протеолізу для окремих функцій білків необхідно спростити схему для протеолізу та інтенсифікувати сам протеоліз.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Балтаджиєва М. Основные вопросы сыра и сыроделия. Типичные твердые виды сыров. 2000. 89с.
2. Богданов В.М., Королева Н.С., Валнишова А.А. МБК на предприятиях молочной промышленности. 1968. 276с.
3. Власенко В.В., Машкін М.І., Бігун П.П.. Технологія виробництва і переробки молока та молочних продуктів. 2000. 306с.
4. Гальперин Д.М. Оборудование молочных предприятий: монтаж, наладка и ремонт. 1900. 352с.
5. Гудков А.В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты. 2004. 804с.
6. Диалаян З.Х. Сыроделие. 1973. 134с.
7. ДСТУ 3662:2018. Молоко-сировина коров'яче. Технічні умови. [чинний з 01.01.2019]. Вид. офіц. Київ: Держспоживстандарт України. 2019.
8. ДСТУ 6003:2008. Сири тверді. [чинний з 01.03.2009]. Вид. офіц. Київ: Держспоживстандарт України. 2008.
9. ДСТУ 8549:2015. Напої з сироватки. Загальні технічні умови. [чинний з 01.01.2017.]. Вид. офіц. Київ: Держспоживстандарт України. 2017.
10. Журнал «Молоко переработка » №12/2007.
11. Крамаренко О.С.. Біохімія молока і молочних продуктів : курс лекцій. 2017. 96 с.
12. Кузнецов В.В., Шилер Г.Г.. Справочник технолога молочного производства. Технология и рецептуры. Том 3 Сыры. 2003. 467с.
13. Машкін М.І., Париш Н.М.. Технологія виробництва молока і молочних продуктів. Навчальне видання. 2006. 351 с.
14. Поліщук Г.Є., Грек О.В., Скорченко Т.А., та інші. Технологія молочних продуктів: підручник. 2013. 502с.

15. Ростроса Н.К. Мордвинцева П.В. Курсовое и дипломное проектирование предприятий молочной промышленности. 1989. 303с.
16. Соколова З.С., Лакамова Л.И., Тиняков В.Г.. Технология сыра и продуктов переработки сыворотки. 1992. 335с.
17. Ткач Т.К. ТХК на предприятиях молочной промышленности. 1900. 168с.
18. ТУ У 10,5-31259168-002:2019. Сир твердий «Російський класичний» брус. [чинний з 02.02.2021.]. Вид. офіц. Київ: Держспоживстандарт України. 2021.
19. Храпцов А.Г., Павлов В.А., Нестеренко П.Г. та інші. Переработка и использование молочной сыворотки.1989. 271с.
20. Nozhechkina G.N. (2013), Formirovanie organolepticheskikh pokazatelei tverdykh syrov. Faktory sozrevaniia tverdykh syrov, *Molochnaia industriia*, 1, pp. 28-30.
21. Marilley L., Casey M.G. (2004), Flavours of cheese products: Metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains, *International Journal of Food Microbiology*, 90, pp. 139–159.
22. Ordiales E., Martín A., Benito M. J. (2013), Role of the microbial population on the flavor of the soft-bodied cheese Torta del Casar, *Journal of Dairy Science*, 96(9), pp. 5477-5486.
23. Sgarbi E., Lazzi C., Tabanelli G. (2013), Nonstarter lactic acid bacteria volatiles produced using cheese components, *Journal of Dairy Science*, 96(7), pp. 4223-4234.
24. Manukyan S.S. (2012), Changes of microflora in the “Shveitstarskii” cheese manufactured with the two-sided pressing, *Сыроделье и маслodelье*, 6, pp. 19-20.
25. Orliuk Yu.T., Stepanyshchev M.I. (2013), Research of proteolysis in blue-veined brie cheese, *Scientific Works of National University of Food Technologies*, 50, pp. 143-147.
26. Bergamini C.V., Peralta G.H., Milesi M.M., Hynes E.R. (2013), Growth, survival, and peptidolytic activity of *Lactobacillus plantarum* I91 in a hard-cheese model, *Journal of Dairy Science*, 96 (9), pp. 5465-5476.

27. Yukalo, V.H., Storozh, L.A. (2017), Obtaining of casein phosphopeptides under the influence of proteolytic systems of Lactococci, *Scientific Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhytskyj*, 19 (75), pp. 50-54.
28. Yukalo, A.V., Storozh, L.A., Yukalo, V.H. (2012), Proteiny kazeinovoho kompleksu moloka koriv (*Bos taurus*) yak popередnyky biolohichno aktyvnykh peptydiv, *Biotekhnolohiia*, 5(4), pp. 21–33.
29. Haque E., Chand R., Kapila S. (2009), Biofunctional Properties of Bioactive Peptides of Milk Origin, *Food Reviews International*, 25 (1), pp. 28–43.
30. Nagpal R., Behare P., Rana R., Kumar A, Kumar M, Arora S, Morotta F, Jain S, Yadav H. (2009), Bioactive peptides derived from milk proteins and their health beneficial potentials: an update, *Food & Function*, 2 (1), pp. 18–27.
31. Szwajkowska M., Wolanciuk A., Barłowska J., Król J., Litwińczuk Z. (2011), Bovine milk proteins as the source of bioactive peptides influencing the consumers' immune system - a review, *Animal Science Papers and Reports*, 29 (4), pp. 269–280.
32. Sieber R, Butikofer U, Egger C, Portmann R, Walther B, Wechsler D. (2010), ACE-inhibitory activity and ACE-inhibiting peptides in different cheese varieties, *Dairy Science & Technology*, 90 (1), pp. 47–73.
33. Iukalo A. V., Datsyshyn K. Ye., Yukalo V. G. (2013), Bioactive peptides of the cow milk Whey proteins (*bos taurus*), *Biotekhnolohiia*, 6(5), pp. 49–61.
34. Madureira A. R., Tavares T., Gomes A. M. P., Pintado M.E., Malcata F. X. (2010), Physiological properties of bioactive peptides obtained from whey proteins, *Journal of Dairy Science*, 93 (2), pp. 437–455.
35. Sadat-Mekmene L., Richoux R., Aubert-Frogerais L., Madec M.-N., Corre C., Piot M., Jardin J., le Feunteun S., Lortal S., Gagnaire V. (2013), *Lactobacillus helveticus* as a tool to change proteolysis and functionality in Swiss-type cheeses, *Journal of Dairy Science*, 96 (3), pp. 1455-1470.
36. Ferreira I.M., Pinho O., Monteiro D., Faria S., Cruz S., Perreira A., Roque A.C., Tavares P. (2010), Effect of kefir grains on proteolysis of major milk proteins, *Journal of Dairy Science*, 93(1), pp. 27-31.

37. Zhang S, Zhang L, Han X. (2015), Lactic acid bacteria proteinase and quality of fermented dairy products. A review, *Wei Sheng Wu Xue Bao*, 55(12), pp.1530-1536.
38. Exterkate F.A., Albing A.C., Bruinenberg P.G. (1993), Diversity of cell envelope proteinase specificity among strains of *Lactococcus lactis* and its relationship to charge characteristics of the substrate-binding region, *Applied and Environmental Microbiology*, 59, pp. 3640-3647.
39. Andrews A T, Varley J. (1994), *Biochemistry of milk products*, Royal Society of Chemistry, Cambridge.
40. Yukalo V.H. (2007), *Bilky kazeinovoho kompleksu koroviachoho moloka ta produkty yix proteolizu za dii fermentiv molochnokyslykh bakterii*, Instytutu biolohii tvaryn UAAN, Lviv.
41. Juillard V., Laan H., Kunji E.R.S. (1995), The extracellular P1-type proteinase of *Lactococcus lactis* hydrolyzes  $\beta$ -casein into more than one hundred different oligopeptides, *Journal of Bacteriology*, 177, pp. 3472-3478.
42. Exterkate F.A., De Veer G. (1985), Partial isolation and degradation of caseins by cell wall proteinase of *S. cremoris* HP, *Applied and Environmental Microbiology*, 49 (2), pp. 328-332.
43. Yamamoto N., Akino A., Takano T. (1993), Purification and specificity of cell-wall-associated proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP 790, *The Journal of Biochemistry*, 114, pp. 740-745.
44. Rawlings N. D, Barrett A.J., Woessner J. F. (2012), *Handbook of Proteolytic Enzymes: 3rd Edition*, Elsevier: Academic Press.
45. Stressler T, Eisele T., Schlayer M. (2013), Characterization of the recombinant exopeptidases PepX and PepN from *Lactobacillus helveticus* ATCC 12046 important for food protein hydrolysis, *PLoS One*, 8(7), e70055. doi: 10.1371/journal.pone.0070055.
46. Tan P.S.T., Van Alen-Boerrigter J.J., Poolman B. (1992), Characterization of the *Lactococcus lactis* pep N gene encoding an aminopeptidase homologous to mammalian aminopeptidase N, *FEBS Lett*, 306, pp. 9-16.



47. Niven G.W., Holder S.A., Stroman P. (1995), A study of the substrate specificity of aminopeptidase N from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 43, pp. 91-97.
48. Christensen J.E., Steele J.L. (1996), Characterization of peptidase-deficient *Lactobacillus helveticus* CNRZ 32 derivatives, *Fifth Symposium on Lactic Acid Bacteria*, The Netherlands, Veldhoven, pp. 391-397.
49. Mireau I., Kunji E.R.S., Leenhouts K.J. (1996), Multiple-peptidase mutants of *Lactococcus lactis* are severely impaired in their ability to grow in milk, *Journal of Bacteriology*, 178, pp. 2794-2803.
50. Mata L., Erra-Pujada M., Gripon J.C., Mistou M.Y. (1997), Experimental evidence for the essential role of the C-terminal residue in the strict aminopeptidase activity of the thiol aminopeptidase Pep C a bacterial bleomycin hydrolase, *Biochemical Journal*, 328, pp. 343-347.
51. Hafeez Z., Cakir-Kiefer C., Girardet J.M., Jardin J., Perrin C., Dary A., Miclo L. (2013), Hydrolysis of milk-derived bioactive peptides by cell-associated extracellular peptidases of *Streptococcus thermophilus*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97, pp. 9787-9799.
52. Kimura K., Nagasawa A., Fujii M. (2002), Cloning of the pepX gene of *Lactobacillus helveticus* IF03809 encoding salt-tolerant X-prolyl dipeptidyl aminopeptidase and characterization of the enzyme, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 93, pp.589-594.
53. Stressler T., Eisele T., Schlayer M. (2012), Production, active staining and gas chromatography assay analysis of recombinant aminopeptidase P from *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* DSM 20481, *AMB Express*, doi: 10.1186/2191-0855-2-39.
54. Mori S., Sumino S., Kasumi T. (2002), Substrate specificity of a tripeptidase as a metalloenzyme purified from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* ATCC 13675, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 93, pp.360-366.
55. Chen Y.S., Christensen J.E., Broadbent J.R. et al. (2003), Identification and characterization of *Lactobacillus helveticus* PepO<sub>2</sub>, an endopeptidase with post-proline specificity, *Applied and Environmental Microbiology*, 69, pp.1276-1282.

56. Janer C., Arigoni F., Lee B.H. et al. (2005), Enzymatic ability of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* to hydrolyze milk proteins: identification and characterization of endopeptidase O, *Applied and Environmental Microbiology*, 71, pp.8460-8465.

57. Залашко М.В., Образцова Н.В., Савинко Е.І. Дослідження протеолітичної активності молочнокислих бактерій // *Фізіологія і біохімія мікроорганізмів*. – 1970. – С. 121-128.

58. Банникова Л.А., Королева Н.С., Семенихина В.Ф. Мікробіологічні основи молочного виробництва. – М.: Агропромвидав, 1987. – 400 с.

59. Гандзюк, М. П. Основи охорони праці [Текст] : підручник / М. П. Гандзюк, Є. П. Желібо, М. О. Халімовський ; за ред. М. П. Гандзюка ; МОН України. – 4-е видання. – К. : Каравела, 2008. – 384 с. – ISBN 966-8019-01-6.

60. Основи охорони праці [Текст] : підручник / О. І. Запорожець, О. С. Протоєрейський, Г. М. Франчук, І. М. Боровик. – К. : Центр учбової літератури, 2009. – 264 с. – ISBN 978-966-364-934-4.

61. Стручок В.С. Безпека в надзвичайних ситуаціях. Методичний посібник для здобувачів освітнього ступеня «магістр» всіх спеціальностей денної та заочної (дистанційної) форм навчання / В.с. Стручок. – Тернопіль: ФОП Паляниця В.А., 2022. – 156 с.

62. Перша допомога при отруєнні аміаком [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://uoz.mkrada.gov.ua/main/news/514-persha-dopomoga-u-razi-otruennya-amiakom>

63. Характеристика фізіологічних властивостей протеолітичноактивних лактококів / Юкало В., Назарко І., Величко А. // тези доповідей VII Міжнародної науково-технічної конференції «Стан і перспективи харчової науки та промисловості». Тези доповідей (Тернопіль, 28-29 вересня 2023 року) / М-во освіти і науки України, Терн. націон. техн. ун-тім. І. Пулюя [та ін.]. – Тернопіль: ФОП Паляниця В. А., 2023. – С. 72.

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА**  
**ПУЛЮЯ**  
*(Україна)*  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ**  
*(Україна)*  
**ІНСТИТУТ МЕДИЦИНИ ПРАЦІ ІМ. Ю.І. КУНДІЄВА**  
*(Україна)*  
**ВАРМІНСЬКО-МАЗУРСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ**  
*(Польща)*  
**СЛОВАЦЬКИЙ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ**  
*(Словаччина)*  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ «ЛЬВІВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА»**  
*(Україна)*  
**ПОЛЬСЬКА АКАДЕМІЯ ЗДОРОВ'Я**  
*(Польща)*

**VII Міжнародна науково-технічна конференція**  
**Стан і перспективи харчової науки та**  
**промисловості**

**Тези доповідей**  
**28 – 29 вересня 2023 р.**

**Тернопіль**

УДК 637.146/138

Володимир Юкало, докт. біол. наук, проф.; Ірина Назарко, канд. пед. наук, доц.;  
Арсен Величко, студент-магістр

Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, Україна

### ХАРАКТЕРИСТИКА ФІЗІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПРОТЕОЛІТИЧНО АКТИВНИХ ЛАКТОКОКІВ

V. Yukalo, Dr., Prof.; I. Nazarko, Ph.D., Assoc. Prof.; A. Velychko  
CHARACTERISTICS OF PHYSIOLOGICAL PROPERTIES  
PROTEOLITICALLY ACTIVE LACTOCOCCI

Лактококи входять до складу багатьох видів заквасок і широко використовуються у виробництві кисломолочних продуктів (кисломолочного сиру, сметани, кислотовершкового масла) та різних видів твердих сирів. Штами лактококів вирізняються за своїми фізіологічними властивостями [1]. Це стосується здатності утворювати молочну кислоту, стійкості до NaCl, фагостійкості, здатності утворювати діацетил та ацетоїн. Окрім цього, важливе значення має активність і склад протеолітичних систем лактококів [2]. *Протеолітична активність* забезпечує амінокислотне живлення і нормальний розвиток лактококів у молочному середовищі. *Склад і співвідношення ферментів* протеолітичних систем лактококів визначає формування органолептичних властивостей молочних продуктів за рахунок утворення смакових пептидів, зокрема, гірких пептидів [2].

Особливо важливу роль протеолітична активність лактококів відіграє при виготовленні сирів, оскільки біохімічні процеси розпаду білкових речовин лежать в основі визрівання всіх видів сирів. Але занадто висока протеолітична активність молочнокислих бактерій може негативно впливати на реологічні властивості кисломолочних продуктів. В останні десятиліття протеолітичні системи лактококів детально вивчають у зв'язку з можливістю утворення за їх дії на білки молока численних біологічно активних пептидів [3].

Метою роботи було визначення фізіологічних властивостей п'яти штамів протеолітично активних лактококів виду *Lactococcus lactis*.

Протеолітичну активність визначали з допомогою модифікованої методики М. В. Залашка [3]. Кислотоутворювальну активність, стійкість до NaCl та антибіотиків визначали за концентрацією молочної кислоти. Специфічність дії протеолітичних ферментів лактококів визначали за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі [4].

В результаті проведених досліджень відібрані два перспективних штами для включення до складу заквасок і дослідження на здатність утворювати біологічно активні пептиди в результаті дії їх протеолітичних систем на білки молока.

#### Література

1. Юкало В. Г., Сторож Л. А. Протеолітична активність приклітинних і внутрішньоклітинних ферментів у лактококів. Наукові праці НУХТ. 2011. № 37, 38. С. 98-102.
2. Yukalo V. G., Krupa O. M. The proteolytic systems of lactic acid microorganisms: a review. Ukrainian Food Journal. 2017. Vol. 6, Is. 3. P. 417-432.
3. Юкало В. Г. Біологічна активність протеїнів і пептидів молока : монографія / Юкало В. Г. – Тернопіль : Вид-во ТНТУ імені Івана Пулюя, 2021. – 372 с.
4. Юкало В. Г., Крупа О. М., Сторож Л. А. Експрес-аналіз казеїнів коров'ячого молока. Наукові праці НУХТ, Т.28, № 5. С. 127-135.