



Факультет Інженерії машин, споруд і технологій  
(повна назва факультету)

Кафедра Харчової біотехнології і хімії  
(повна назва кафедри)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

Покотило О.С.

(підпис)

(прізвище та ініціали)

«    »

2021 р.

## ЗАВДАННЯ НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ

на здобуття освітнього ступеня Магістр  
(назва освітнього ступеня)

за спеціальністю 181 – Харчові технології  
(шифр і назва спеціальності)

студенту Солодкий Михайло Андрійович  
(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи **Розробка технології сиру сичужного  
з використанням дріжджів для прискорення  
процесу дозрівання**

Керівник роботи Кухтин Микола Дмитрович, професор  
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

Затверджені наказом ректора від « 29 » 09 2021 року № 4/7-804

2. Термін подання студентом завершеної роботи грудень 2021 року

3. Вихідні дані до роботи Спеціальна, періодична література та нормативна  
документація з питань досліджень. Методики та методи досліджень стандартні та уніфіковані

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

1. Провести біохімічну та мікробіологічну оцінку дріжджів *Y. lipolytica* для можливого використання у технології сичужного сиру.

2. Дослідити сировину за показником сиропридатність для виготовлення сиру з мікроорганізмами *Y. lipolytica*.

3. Охарактеризувати технологічний процес з виготовлення сиру типу Голландський з додатковим використанням стартерних мікроорганізмів *Y. lipolytica*.

4. Дослідити зміни із компонентами сирної маси в процесі дозрівання сиру.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень, слайдів)  
інженерно-графічні креслення, графіки, схеми

## 6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Охорона праці			
Безпека в надзвичайних			
Ситуаціях			
Нормоконтроль			

## 7. Дата видачі завдання

## КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів роботи	Термін виконання етапів роботи	Примітка
1.	Аналітичний огляд та патентний пошук інформації відповідно до теми магістерської роботи		
2.	Складання схеми досліджень	21.06.21 р. – 25.06.21 р.	
3.	Опрацювання методики досліджень	29.06.21 р. – 05.07.21 р.	
4.	Виконання експериментальних досліджень (Частина I)	06.07.21 р. – 27.07.21 р.	
5.	Завершення експериментальних досліджень (Частина II)	01.09.21 р. – 24.09.21 р.	
6.	Збір інформації до виконання розділу та «Безпека в надзвичайних ситуаціях»	27. 09.21 р. – 01.10.21 р.	
7.	Закінчення написання розділів	04.10.21 р – 29.11.21 р.	
8.	Подання магістерської роботи до захисту	03.12.21 р	

Студент

(підпис)

Солодкий М. А.

(прізвище та ініціали)

Керівник роботи

(підпис)

Кухтин М.Д.

(прізвище та ініціали)

## ЗМІСТ

	Реферат	6
	Вступ	7
1	Огляд літератури	10
1.1	Характеристика мікрофлори сиру у технології його виробництва	10
1.2	Методики, які використовуються для вивчення мікроорганізмів у сирі	11
1.2.1	Роль натрію хлориду в процесах дозрівання сиру	13
1.2.2	Роль рН і органічних кислот у процесах дозрівання сиру	14
1.2.3	Значення температури у процесах дозрівання сиру	14
1.2.4	Значення окисно-відновного потенціалу у процесах дозрівання сиру	14
1.2.5	Нітрат у процесах дозрівання сиру	15
1.6	Стартерні бактерії (молочнокислі бактерії) у процесах дозрівання сиру	16
1.4	Вторинна мікрофлора у сирі	21
1.4.1	Пропіоновокислі бактерії у певних видах сирах	24
1.4.2	Мікроорганізми поверхні сиру	25
1.4.3	Роль цвіль і дріжджів у технології виробництва сиру	27
2	Матеріали і методи досліджень	29
2.1	Етапи досліджень	29
2.2	Методи досліджень	31
2.3	Статистичний аналіз	31
3	Результати дослідження та їх обговорення	32
3.1	Особливості біохімічної та мікробіологічної оцінки дріжджів <i>Y. lipolytica</i> для можливого використання у технології сичужного сиру	32

3.2	Дослідження сировини за показником сиропридатність для виготовлення сиру з мікроорганізмами <i>Y. lipolytica</i>	34
3.3	Характеристика технологічного процесу з виготовлення твердого сиру типу Голландський з додатковим використанням стартерних мікроорганізмів <i>Y. lipolytica</i>	37
3.4	Дослідження змін із компонентами сирної маси в процесі дозрівання	39
3.4.1	Зміна лактози	39
3.4.2	Зміна стартових молочнокислих заквасочних бактерій	41
3.4.3	Зміна дріжджів	43
3.4.4	Зміна активної кислотності	44
3.4.5	Зміна етанолу	46
3.4.6	Зміна продуктів білкового розпаду	47
	Висновки і пропозиції виробництву	50
4	Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях	51
4.1	Розробка заходів безпеки праці за умови реконструкції цеху з виробництва твердого сиру	51
4.2	Цивільний захист в надзвичайних ситуаціях	55
	Список літератури	59
	Додатки	67

## РЕФЕРАТ

Магістерська робота: 70 с., 11 рис., 1 табл., 72 джерел.

СИР СИЧУЖНИЙ, *Y. lipolytica*, ДОЗРІВАННЯ СИРУ, ТЕХНОЛОГІЧНІ ПРОЦЕСИ.

Об'єкт дослідження: молочнокислі закваски, дріжджі *Y. lipolytica*, технологія сиру, біохімічні зміни в сирі.

Мета роботи – Обґрунтувати доцільність використанні штамів *Y. lipolytica* для покращення смаку, протеолітичної та ліполітичної активності мікрофлори сиру для скорочення терміну його дозрівання.

Методи дослідження: аналітичні, мікробіологічні, фізичні, біохімічні, статистичні.

Розроблено схему виробництва сиру з мікроорганізмами виду *Y. lipolytica* та встановлено, що в експериментальному взірці сиру з клітинами доданих дріжджів процес утилізації лактози, проходив в 1,5 раза швидше, проти взірця порівняння. Інтенсивність заквасочної мікробіоти (лактобактерій), тобто їх розвиток протягом десяти днів перебуває у симбіозі з доданими дріжджами виду *Y. Lipolytica*. Це стимулює метаболізм лактобактерій у експериментальному сир, тому їх більше у ньому. Кількість лактобактерій на п'ятдесятю добу становила 12 та 5 млрд. клітин в грамі в експериментальному та взірці порівняння, відповідно. У експериментальному взірці сиру протягом усього шістдесяти добового терміну дослідження, активна кислотність була практично на 0,15 од нижча, проти взірця порівняння. При визначені кількості етанолу у експериментальному взірці то його вміст був на рівні 0,0058 %, це вказує, що вид *Y. lipolytica* не приймає участі у спиртовому бродінні. Виявлено прямо виражену тенденцію, щодо більшого розпаду білкових молекул у експериментальному взірці сиру, проти взірця порівняння. При цьому у експериментальному сирі загальна кількість азотистих речовин, які розчинні була  $83,5 \pm 0,3$  %, проти  $65,3 \pm 0,2$  % у взірці порівняння.

## Вступ

**Актуальність теми.** Однією із важливою складовою в технології виробництва твердих сирів є процес їх дозрівання. Саме від дозрівання у великій мірі залежить формування органолептичних та відповідних структурних пластичних властивостей готового продукту. Отже, дозрівання сирів – це технологічна стадія під час якої відбуваються сукупність упорядкованих мікробіологічних і біохімічних процесів під впливом активної участі заквасочних культур молочнокислих бактерій [1]. На сьогоднішній день існує велика кількість різних видів твердих сирів, проте формування певного виду сиру пов'язане з кількісним і якісним складом заквасочної мікрофлори. Найбільш важливі стартові мікроорганізми від яких залежить правильність біохімічних змін у сирі під час його дозрівання – це молочнокислі бактерії (лактобактерії і лактококи) та протеолітично і ліполітично активні пропіоновокислі бактерії [2]. Крім мікроорганізмів, так званої стартової групи, яка додається до молочної сировини під час дозрівання сирів, у ній наявна інша мікрофлора, так звана залишкова після пастеризації. Ще однією групою мікроорганізмів, яка відноситься до залишкової мікрофлори молочної сировини після пастеризації, яка потрапляє з технологічного обладнання і навколишнього середовища – це дріжджові мікроорганізми. Дикі раси дріжджів, які потрапляють у сир під час дозрівання вважаються технічно-шкідливою мікрофлорою, так як вони погіршують органолептичні властивості сиру через процес спиртового бродіння. Однак останнім часом науковці-технологів зацікавив вид дріжджів *Yarrowia lipolytica*, який використовують у багатьох галузях (фармацевтичній, м'ясній), в тому числі і в молочній, так як цей мікроорганізм сприяє формуванню певної текстури та аромату продукту, пришвидшує процес гідролізу ліпідів та білків [3]. Крім того, *Yarrowia lipolytica* має потенціал для його використання у виробництві продуктів із біологічною цінністю, таких як вони продукують органічні кислоти, ароматичні сполуки, емульгатори. Тому використання даного мікроорганізму

у заквасках для пришвидшення процесу дозрівання твердих сирів є актуальним і перспективним.

**Мета і завдання досліджень.** Мета роботи – Обґрунтувати доцільність використанні штамів *Y. lipolytica* для покращення смаку, протеолітичної та ліполітичної активності мікрофлори сиру для скорочення терміну його дозрівання.

*Для виконання поставленої мети визначені такі завдання:*

1. Провести біохімічну та мікробіологічну оцінку дріжджів *Y. lipolytica* для можливого використання у технології сичужного сиру.

2. Дослідити сировину за показником сиропридатність для виготовлення сиру з мікроорганізмами *Y. lipolytica*.

3. Охарактеризувати технологічний процес з виготовлення сиру типу Голландський з додатковим використанням стартерних мікроорганізмів *Y. lipolytica*.

4. Дослідити зміни із компонентами сирної маси в процесі дозрівання сиру.

Об'єкт дослідження – молочнокислі закваски, дріжджі *Y. lipolytica*, технологія сиру, біохімічні зміни в сирі.

Предмет дослідження – технологічні зміни у сирі з дріжджами *Y. lipolytica* за його дозрівання.

Методи досліджень: аналітичні, мікробіологічні, фізичні, біохімічні, статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Обґрунтовано доцільність використанні штамів *Y. lipolytica* для покращення смаку, протеолітичної та ліполітичної активності мікрофлори сиру для скорочення терміну його дозрівання. Встановлено, що інтенсивність заквасочної мікробіоти (лактобактерій), тобто їх розвиток протягом десяти днів перебуває у симбіозі з доданими дріжджами виду *Y. Lipolytica*. Це стимулює метаболізм лактобактерій у експериментальному сир, тому їх більше у ньому. Кількість лактобактерій на п'ятдесятю добу становила 12 та 5 млрд. клітин в грамі в



експериментальному та взірці порівняння, відповідно.

**Практичне значення одержаних результатів.** Запропоновано технологію виробництва сиру типу Голландського із закваскою дріжджів вид *Y. lipolytica*, які інтенсифікують процес дозрівання.

**Особистий внесок здобувача.** Автор особисто провів аналіз літератури (статті, тези, монографії, тощо), деклараційних патентів, технічних умов з обраної теми. Підібрав і опрацював методи і методики для здійснення дослідження. Провів у запланований час експериментальні дослідження, оформив роботу і представив її до захисту.

**Апробація результатів.** Виступ на міжнародній науковій конференції «Сучасні досягнення в органічному синтезі, хімії полімерів та харчових добавок», присвячена світлій пам'яті та 80-річчю від дня народження д.х.н., проф. Воронова Станіслава Андрійовича / Львів: Національний університет «Львівська політехніка» (м. Львів, 7-8 грудня 2021 року) (Додаток А).

**Структура і обсяг роботи.** Кваліфікаційна робота складається з таких частин: вступу, основної частини, яка представлена трьома розділами (аналіз літературних джерел, матеріалів і методів для проведення експериментів, власне експериментального розділу, висновків та пропозицій виробництву. Четвертий розділ – це охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях. Список літератури та додатки. Робота викладена на 70 стор. і містить 11 рисунків. 1 таблицю. Список літератури має 70 джерел.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1. Характеристика мікрофлори сиру у технології його виробництва

Виробництво сиру почалося близько 8000 років тому і зараз у всьому світі існує понад 1000 сортів сиру (Sandine & Elliker, 1970), кожен унікальний по відношенню до свого смаку і форми. Виробництво більшості сортів сиру передбачає поєднання чотирьох інгредієнтів: молока, сичужного ензиму, мікроорганізмів і солі, які переробляються через ряд поширених етапів, таких як утворення гелю, сироватки, потім її вигнання, утворення кислоти та додавання солі у період дозрівання. Варіації сумішей інгредієнтів і подальша переробка привела до еволюції і появи нових сортів сиру. Хоча варіації в обробці такі як параметри, температура приготування та обробка сиру відіграють важливу роль у визначенні характеристики кожного виду сиру. Також сирна мікрофлора має важливе і визначальне значення у розвитку унікальних характеристик кожного сорту сиру [1 – 3].

Основна мета виробництва сиру – це продовження терміну придатності та збереження поживних компонентів молока. Це також досягається завдяки утворенням кислоти та/або зневодненням продукту. Виробництво молочної кислоти, яке відбувається мікрофлорою закваски під час виробництва сиру призводить до зниження рН молочної суміші і це, в поєднанні з варінням і перемішуванням, сприяє синерезису сиру та вигнання сироватки (Walstra, 1993). При цьому всі кислі згорнуті сири споживаються свіжими, і тільки сичужний згорнутий сир проходить період дозрівання. Термін дозрівання якого може становити приблизно протягом трьох тижнів «Моцарелла» до двох років і більше для пармезану і екстра зрілого чеддеру [4, 5].

Дозрівання сиру – це складний процес, що включає ряд біохімічних реакцій. Висока щільність мікроорганізмів, які присутні в сирі протягом

усього терміну дозрівання необхідна для того, що вони відіграють значну роль в процесі дозрівання (Cogan, 2000) [20 – 24].

Мікрофлору сиру можна розділити на дві групи: перша – закваска мікрофлора, яка представлена молочнокислими бактеріями та друга: вторинні мікроорганізми, які залишилися з молока сирого. Стартерні заквасочні молочнокислі бактерії беруть участь у виробленні кислоти під час виробництва сиру і сприяють дозріванню процесу утворення сиру. Вторинні мікроорганізми не сприяють процесу продукування молочної кислоти під час виробництва сиру, але в цілому вони відіграють значну роль під час дозрівання [16 – 20].

Вторинна мікрофлора складається з нестартерних молочнокислих бактерій, які ростуть всередині більшості сортів сиру та інших бактерій, дріжджів та/або цвілі, які ростуть внутрішньо або зовні і зазвичай є унікальними для конкретного виду сиру або близькоспоріднених видів.

## **1.2. Методики, які використовуються для вивчення мікроорганізмів у сирі**

Основне завдання мікробіолога під час контролювання технології виробництва сиру полягає в тому, щоб мати чітке уявлення про розвиток мікрофлори сиру та її еволюцію під час дозрівання. Важливо, щоб контролювалася повна мікрофлора, компоненти якої точно можна ідентифікувати та охарактеризувати [21– 23].

Доступний широкий спектр методів, які можуть бути поділені на три групи: 1 – методи, які залежать від культивування з подальшою фенотиповою характеристикою; 2 – методи, які залежать від вирощування, та молекулярна характеристика мікроорганізмів; 3 – методи, які залежить лише від молекулярної характеристики. Всі ці методи мають супутні переваги і недоліки.

Класична мікробіологія сиру залежить виключно від першого методу. Зразки сиру гомогенізують і висівають на різноманітні середовища, а потім визначають фенотипічні характеристики виділених ізольованих колоній. У той час як вибіркоче дослідження дає корисний результат наявності мікробної флори сировини і сиру, тільки штами які можуть рости за селективних умов використовуються для моніторингу і фенотипової характеристики. Такий підхід також обмежений у своїй чутливості і часто не підходить для рутинного аналізу до рівня підвиду або штаму [24, 25, 20].

Застосування молекулярних методів для характеристики мікроорганізмів долають багато проблем пов'язані з фенотиповою характеристикою. У той час як найбільш часто використовувані методи включають характеристику нуклеїнової кислоти або білків, аналіз жирних кислот [5-10], антигенної будови клітинної стінки та мембрани, також виявилися корисними.

Широкий ряд методів, які засновані на аналізі нуклеїнових кислот були розроблені та мають свої переваги та недоліки, які пов'язані з кожним із них методом [11 – 15]. Всі ці молекулярні підходи вимагають попереднього підрощування мікроорганізмів на різних поживних середовищах, проте існує певна небезпека, що лише частина із загальної кількості мікроорганізмів може розвинути.

Розвиток методів мікробного аналізу зробили революцію в вивченні мікробної екології. Їх застосування у мікробіології сиру дало можливість пізнати про такий складний і одночасно необхідний мікробний процес [20].

На перших етапах виробництва сиру водна активність ( $a_w$ ) становить 0,99, яка підтримує ріст і активність закваски. Однак після відділення сироватки, згусток засолоють, в цей час дозрівання переважні рівні водної активності  $a_w$  становить 0,917–0,988 Ruegg & Blanc, 1981 [61, 62], значно нижчі, ніж оптимальні вимоги для стартових заквасочних бактерій.

Отже, у процесі приготування сиру мікробіологічні зміни пов'язані з водною активністю середовища, яка регулює процеси росту мікрофлори і відповідно її біохімічну активність.

Молочнокислі бактерії (МКБ) зазвичай мають вищий мінімум  $a_w$ , ніж інші сирні бактерії; мінімальний  $a_w$  для *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* і *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* становлять 0,93, > 0,98, > 0,96 та 0,96 відповідно [27 - 30]. Пригнічення в  $a_w$  під час дозрівання сиру відбувається внаслідок втрати води при випаровуванні солі, а також гідролізу білків до пептидів і амінокислот та тригліцериди до гліцерину та жирних кислот. Гідроліз кожного пептидного або складно-ефірного зв'язку вимагає однієї молекули води. Оскільки значний протеоліз відбувається в сиру, рівень незв'язаної вологи зменшиться під час дозрівання (Cogan, 2000) [20]. Контроль втрати вологи відбувається за рахунок підвищення відносної вологості повітря дозрівання або шляхом упаковки сиру у віск або пластик. Значення  $a_w$  можуть відрізнятися різних зонах в сиру; для розсолу твердих і напівтвердих сирів значення зазвичай вище до центру. Сир чеддер сухосолений і упакований у вакуумну упаковку, тому ніякої втрати вологи не відбудеться і не змінюється  $a_w$ , оскільки сіль рівномірно розподілена в сирі.

### **1.2.1 Роль натрію хлориду в процесах дозрівання сиру**

Сіль і  $a_w$  дуже пов'язані між собою, пригнічення закваски та бактерій псування переважно відбувається за допомогою сіллю і відображає вплив солі на зниження  $a_w$ . Концентрація необхідна для гальмування процесів розвитку бактерій залежить від характеру сиру, його рН і вологості, але, як правило, 10–100 г/кг достатня. Пригнічення  $a_w$ , яка виникає, коли сіль (або будь-яка розчинена речовина) розчиняється у воді, і вважається основним фактором інгібування [30, 13].

Концентрація солі в сирі коливається від 0,7 до 7 г/100 г, що відповідає значенням  $a_w$  0,99–0,95 відповідно. Багато мікроорганізмів здатні рости в

таких умовах, таким чином за допомогою солі можна корегувати активність води і тим самим пригнічувати або стимулювати ріст мікробів у сиронму згустку. Проте важливу роль відіграє концентрація солі, яка розчинена у вологості сиру, а не фактична концентрація солі, яка додається шляхом сухого внесення або розсолу до сиру, саме це визначає гальмівну дію солі [32, 33].

### **1.2.2 Роль рН і органічних кислот у процесах дозрівання сиру**

Оптимальний рН для росту найбільш поширених бактерії майже нейтральний, а ріст часто повільний за значення рН 5,0 од. За рахунок накопичення органічних кислот, сичужний сир після виробництва має діапазон рН від 4,5 до 5,3 од. Такі низькі значення рН не дозволяють виживання кислоточутливих видів бактерій. Справжнім інгібітором вважається, що це недисоційована форма органічної кислоти [34, 35]. Основними органічними кислотами, що містяться в сирі, є молочна, оцтова і пропіонова кислоти, які мають  $pK_{as}$  3.08, 4.75 та 4.87 відповідно. Таким чином молочна кислота є найменшою, а пропіонова кислота є найефективнішим інгібітором в тій же концентрації та значенні рН сиру. Проте лактат у сирному сирі є незмінно присутній у набагато більших концентраціях, ніж будь-яка з двох інших кислот, за винятком випадку швейцарського сиру, де концентрація пропіонової кислота може бути вища, ніж молочної у дозрілому сирі [36, 37].

### **1.2.3 Значення температури у процесах дозрівання сиру**

Мікроорганізми, які беруть участь у виробництві сиру під час його дозрівання є або мезофільними, або термофільними і мають оптимальні температури  $30 \pm 1$  °C або  $42 \pm 1$  °C відповідно. Температура, при якій дозріває сир, має компроміс між зростанням бажаної вторинної мікрофлори, яка необхідна для сприяння дозрівання сиру, а також необхідність запобігання розмноженню потенційно небезпечних збудників псування сиру та гальмування розмноження патогенних бактерій. Вища температура сприяє

прискореному дозріванню [36, 37, 38], але зміни структури і смак самого сиру часто бувають нехарактерні і невідповідають даному продукту.

#### **1.2.4 Значення окисно-відновного потенціалу у процесах дозрівання сиру**

Окислювально-відновний потенціал (Eh) є та міра здатності хімічної/біохімічної системи окислювати (втрачати електрони) або зменшувати (збирати електрони). Окислений або відновлений стан позначається позитивним або від'ємним значенням мВ, відповідно. Окислювально-відновний потенціал молока це приблизно +150 мВ, а у сиру близько 250 мВ. Поки точний механізм зниження Eh в сирі не повністю встановлений, швидше за все пов'язаний з бродінням молочної кислоти закваскою під час ферментації, і зменшення невеликої кількості O<sub>2</sub> в молоці до води [39, 40]. Як наслідок цих реакцій, сирна внутрішня частина по суті є анаеробною системи, яка може лише підтримувати зростання обов'язкової або факультативно анаеробної мікрофлори. У різних мікробних асоціаціях культур, Eh може коливатися приблизно від +300 мВ для аеробів до менше ніж 400 мВ для анаеробів (Браун і Ембергер, 1980). Окислювально-відновний потенціал в сирі є одним із основним фактором, що визначає типи розвитку мікроорганізмів, які виростають в сирі.

Отже, обов'язкові аеробні мікроорганізми, такі як *Pseudomonas*, *Brevibacterium*, *Bacillus* і *Micrococcus spp.* виключаються з росту у внутрішній частині сиру. Бактерії, які розвиваються на поверхні сиру переважно облігатні аероби.

#### **1.2.5. Нітрат у процесах дозрівання сиру**

Нітрати (NO<sub>3</sub>) додається в сирне молоко у вигляді селітри (KNO<sub>3</sub>) або NaNO<sub>3</sub>, у виробництві деяких сирів, особливо сорти голландського типу, такі як Едам і Гауда для запобігання росту *Clostridium tyrobutyricum*, який ферментує лактат до бутирату, який відповідає за великі діри присутні у сирі,

тоді як бутират відповідає за утворення неприємного присмаку. У цих сирах розповсюдження кухоні солі відбувається відносно повільно і вирівнювання концентрації солі по всьому сиру може зайняти кілька тижнів. Тому пригнічувати ріст мікроорганізмів псування таких як *C. tyrobutyricum* необхідно перед досягненням сольової рівноваги і нітрат виконує цю функцію. Під час дозрівання нітрат відновлюється до нітриту (фактичний інгібітор росту) наявним ферментом оксидазою, яка присутня в молоці/сирі [41, 42].

Нітрит не впливає на ріст молочнокислих бактерій, але впливає пригнічуючи пропіонібактерії, необхідні для формування вічок (дирочок) в сирі Ементаль і тому не підходить для контролю *C. tyrobutyricum* в сирі, де зростання пропіонібактерій необхідно. Нітрити можуть реагувати з ароматичними амінокислотами в сирі внаслідок чого утворюються нітрозаміни, багато з яких є канцерогенними [41]. Дана реакція нітрозамінування залежить від рН, зустрічається переважно в діапазоні рН 2 – 4,5. Сир має вищий рН, і це сповільнює реакцію, що призводить до утворення нітрозамінів. Більшість з нітратів, які додаються під час приготування сиру, міститься в сироватці або дифундує в розсіл. До того моменту сир готовий до вживання, а рівень нітритів є зазвичай значно нижче допустимого рівня 50 мг/кг, який встановлений в нормативних документах на сири групи голландський [41, 42].

### **1.3. Стартерні бактерії (молочнокислі бактерії) у процесах дозрівання сиру**

Основна функція стартерних бактерій – продукувати кислоти в процесі бродіння. Однак вони також сприяють дозріванню сиру, де продукують свої ферменти, які беруть участь у протеолізі та перетворенні амінокислот в смакові сполуки [42, 43, 44].

Стартерні бактерії можна визначити як ізоляти, які продукують кислоти достатньо для зниження рН молока до 5,3 за 6 год  $30\text{--}37 \pm 1^\circ\text{C}$ . Стартерні бактерії додаються свідомо на початку виготовлення або можуть бути



натуральними забруднювачами молока, як це буває у багатьох кустарних видах сиру з сирого молока. Вони ростуть під час виробництва і зазвичай досягають кількості  $10^8$  КУО/г протягом годин після початку виробництва [46].

Мезофільні або термофільні закваски використовуються в залежності від сиру, що виготовляється. У виробництві використовуються мезофільні культури для сиру Чеддер, Гауда, Едам, Блю і Камамбер, а термофільні культури використовують для сиру високої температури пастеризації ( $50 - 55 \pm 1$  °C), такі сири як Емменталь, Грюйер, Пармезан і Грана [47].

Стартерні бактерії зустрічаються найчастіше представлені такими родами: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, Стрептокок, лейконосток і ентерокок. Можуть бути як мезофільні, так і теплолюбні культури і поділяються на змішані (невизначені) культури, в яких кількість штамів невідома і визначені культури, які складаються з відомої кількості штамів.

Мезофільні культури невизначених або змішаних штамів в основному складається з *L. lactis ssp. cremoris* і *L. lactis ssp. lactis*, що можуть включати метаболізм цитрату штами, для виробництва аромату. Обстеження 113 ізолятів із загальноновживаної невизначеної культури вказує на наявність ряд штамів, що мають різні профілі плазмиди, кислоти та діапазони чутливості до фагів були присутні, що підтверджує, що такі культури дійсно складаються із змішаних штамів [47].

Daly (1983) [31] розглянув використання мезофільних культур у молочній промисловості. Визначені мезофільні культури зараз використовується для виробництва більшості сирів Чеддер у світі. Теплолюбні закваски складаються з штамів *S. thermophilus* і термофільних лактобактерій, такі як *Lb. delbrueckii ssp. delbrueckii*, *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lb. Delbrueckii ssp. lactis* або *Lb. helveticus*. Невизначені або змішані теплолюбні культури використовуються в технологіях дрібних виробництв сирів Грюйер, Емменталь і Грана в Франції, Швейцарії та Італії. Ці культури зазвичай отримують шляхом інкубації в сироватці при температурі  $+ 40 - 45 \pm 1$  °C

протягом терміну 12 – 48 год. Однак мікрофлора складається переважно з *S. thermophilus*, також можуть бути ентерококи, лактококи та лейконостоки присутні, а також кілька видів лактобактерій, включаючи *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus* і *Lb. ферментум*. Подібна натуральна сироваткова закваска, що містить термофільний стрептокок використовується для виготовлення пармезану (Parmigiano Reggiano), твердого вареного сиру з Північної Італії. Ця закваска складається переважно з невизначених штамів *Lb. helveticus* (75 %) і *Lb. delbrueckii ssp. thermophilus* (25 %). Однак їх точний склад неконтрольований та значні коливання на рівні кожного окремого випадку [47 – 51].

Такі сорти, як Пекоріно Сардо (з Сардинії) і Majorero (з Іспанії) виготовляються без навмисне додавання будь-яких заквасок і покладаються на молочнокислі бактерії, які в природі присутні в сирому молоці для зниження рН під час виготовлення.

Недавнє дослідження, яке включало характеристику 4379 ізолятів бактерій із 35 європейських кустарних молочних підприємств, у тому числі 25 сирів (Cogan et al., 1997). Дослідження показало, що 38 % ізолятів були лактококами, 17 % *Enterococcus*, 14 % *S. thermophilus*, 12 % мезофільна лактобактерія, 10 % *Leuconostoc* і 9 % термофільні лактобактерії. Відносно виробництва кислоти дані ізоляти значно відрізнялися. З лактокока і мезофільні ізоляти лактобацил, лише 8 % і 2 %, відповідно, проте з загальному виробляється достатньо кислоти для зниження рН молока до 5,3 за 6 год при  $30 \pm 1$  ° С. Натомість 53 %, 32 % і 13 % *S. thermophilus*, термофільні *Lactobacillus* і ізоляти *Enterococcus* відповідно знижували рН до 5,3. Це свідчить про те, що більшість мезофільних ізоляти бактерій із кустарних сирів не виробляють достатньо кислоти, коли тестується окремо, для приготування сиру і як такі не відповідають визначенню «стартерним» бактеріям. Можливо, що якщо ці ізоляти пртестувати то вони можуть сприяти утворенню кислоти при використанні в комбінації з іншими типовими стартовими штамми, це

однак не було досліджено. Багато з термофільних ізолятів були хорошими продуцентами кислот і, отже, придатні як закваски [52, 53].

Наявність ентерококів як природної частини мікрофлори деяких кустарних виробів викликало багато дискусій, що є певним доказом того, що вони можуть бути пов'язані з клінічними інфекціями у пацієнтів з ослабленим імунітетом або пацієнтів, які перенесли операцію [11]. Фактом є також те, що деякі штами також стійкі до ванкоміцину, що також викликає занепокоєння [53– 57]. Незважаючи на це, дані мікроорганізми зустрічаються у високій щільності у багатьох сирах, особливо ті, що виробляються навколо Середземного моря, і відіграють дуже позитивну роль у розвитку смаку.

Молочнокислі бактерії присутні у закваскових культурах. Систематика стартерних молочнокислих бактерій нещодавно зазнала значних переглядів, у зв'язку з перекласифікацією деяких видів. Наступна детальна генотипічна характеристика [58]. Морфологія клітини, ізомерів та кількість вироблення молочної кислоти та здатність до метаболізму цитрату (тільки мезофільні культури), здатність рости при  $10 \pm 1$  °C і  $45 \pm 1$  °C, використання глюкози, галактози та лактози – це тести за допомогою яких можна легко розрізнити перераховані види.

*Leuconstoc spp.* відрізняється від іншої стартерної бактерії за їх здатністю метаболізувати цукри за допомогою фосфокетотлазного шляху та їх слабка здатність до зростання в молоці. Ймовірно, це пов'язано з відсутністю протеїназної системи для розщеплення білків молока та вивільнення росту субстратів. Це можна подолати, додавши 0,3 % (мас./об.) дріжджового екстракту, як стимулятора; якщо лактозу вони не катаболізують, то може знадобитися 1 % (мас./об.) глюкози.

Виробництво однорідного високоякісного чеддеру сир вимагає рівномірного бродіння лактози і протеолізу білків. Як швидкість, так і масштаб обох цих процесів залежать від температури та концентрації солі, остання повинна бути рівномірно просочена по всій структурі сиру ([55]. Норма лактози для ферментації заквасками в Чеддері залежить від рівнів сухої

речовини у свіжому сирі [56 – 58]. При низьких рівнях сухої речовини була використана вся лактоза (4 %) протягом восьми днів ферментації, у той час як початковий метаболізм був згорнутий при 6 % сухої речовини так, щоб концентрації лактози в сирі залишилася високою протягом кількох тижнів після виготовлення. Ця залишкова лактоза була використана нестартерними молочнокислими бактеріями, але не було сильної кореляції між залишковою лактозою та зростанням нестартерних молочнокислих бактерій, що вказує на те, що вони використовують інші джерела енергії, крім лактози та/або інших факторів росту.

Відповідно до [59, 60] штами *L. lactis ssp. lactis* виживав набагато краще, ніж *L. lactis ssp. cremoris* у присутності 4–5 % NaCl. Одна з основних ролей стартових бактерій полягає в забезпеченні відповідного навколишнього середовища, щодо окислювально-відновного потенціалу, рН і

вмісту вологи в сирі, що дозволяє проявляти ферментаційному процесу під дією сичужного ферменту та закваски. При цьому зростання вторинної мікрофлори проходить несприятливо. Температура під час виробництва та вміст сухої речовини необхідно контролювати під час дозрівання сиру, при цьому необхідно переконатися в тому, що активність стартерних бактерій є достатньою, щоб забезпечити необхідний рН, який необхідно досягти протягом одного дня виробництва. Єдиний вагомий внесок під час розвитку молочнокислих бактерій у молоці сирому – це зростання біомаси LAB в молодому сирці. Це відносно висока біомаса стартера становить значний біокаталітичний потенціал для реакції дозрівання сиру, які можна модулювати шляхом автолізу стартових клітин. Основна аутолітична активність у лактококів через мурамідазу (Mou, Sullivan, & Jago, 1976; Ніскасаарі, 1989). Може бути автоліз стартових клітин під впливом високої концентрації NaCl і пов'язаних солей у вологому сирі (Bie & Sjostrom, 1975), і різні умови виробництва, наприклад підвищена температура приготування також можуть призвести до автолізу [61- 63]. Якщо закваска досягає занадто великої кількості мікробних популяцій або процес ферментації триває занадто довго,

то появляються дефекти смаку, такі як гіркота, які маскують або зменшують смак сиру свіжовиробленого.

Дослідники повідомили [12 – 13], що інтактні стартові клітини ферментували лактозу з вивільненням кисню і, ймовірно, ініціював появу ряду смакових реакцій, а пептидолітичні процеси були прискорені автолізованими клітинами. У молодих сирах є важливим співвідношення інтактних і лізованих клітин для контролю дозрівання сиру Чеддер [22]. Для появи відповідного аромату сиру у ньому накопичуються кінцеві продукти пептидолізу амінокислот під впливом заквасочних мікроорганізмів [44, 48]. Ці реакції забезпечують не тільки важливий смак сиру, а також є попередниками для подальшого створення аромату в сирі.

Застосування штамів *S. thermophilus* та/або *Lb. helveticus* в якості допоміжного засобу у виробництві сиру Чеддер зараз звичайний технологічний процес. Інші продемонстрували, що *Lb. helveticus* дуже швидко автолізується в сирі Чеддер і це призвело до значно вищого рівня вільних амінокислот і покращення смаку сиру [62].

#### **1.4. Вторинна мікрофлора у сирі**

Нестартерні молочнокислі бактерії – це мезофільні лактобактерії та педіококи, які складають значну частину мікробної флори більшість сортів сиру під час дозрівання. Вони не є частиною нормальної стартової мікрофлори, вони зазвичай не ростуть добре в молоці (Cogan et al., 1997) [21], і не сприяють утворення кислоти в сирному чані. Лактобактерії традиційно поділяються на три групи: обов'язкові гомоферментативні; (II) факультативно гетероферментативні, або (III) обов'язкові гетероферментативні. Нестартерні лактобактерії регулярно зустрічаються в сирі, входять до складу факультативно гетероферментативної групи, тому їх іноді називають факультативно гетероферментативними лактобактеріями. Було багато видів мезофільних лактобактерій виділені з сиру, але найбільш часто зустрічаються

*Lb. casei/lb. paracasei*, *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus* і *Lb. curvatus* (Jordan & Cogan, 1993) [23];

*Pediococcus acidilacci* і *Pe. pentosaceus* найбільш часто зустрічається серед педіококів в сирі. Нестартерова молочнокисла флора багатьох сортів сиру була предметом вивчення в останні роки багатьма науковцями. Бактеріальна мікрофлора дозрілих напівтвердих сирів, Jarlbergand Норвегія з Норвегії і Херргард, Греве і Гауда зі Швеції, виготовлена з пастеризованого молока в якому переважають (76 %) мезофільні лактобактерії, переважно *Lb. paracasei/lb. casei* і *Lb. rhamnosus*. Нестартова молочнокисла флора багатьох традиційних грецьких сирів представлена *Lb. Plantarum* [21].

У сирах фета і телеме в 47,8 % і 65,8 % виділені лактобактерії були ідентифіковані як *Lb. Plantarum* (Tzanetakis & Litopoulou-Tzanetaki, 1992). *Lb.. plantarum* і *Lb.. paracasei* становили 18,4 % і 15,8 % від мікрофлори сиру Кефалотірі, який дозрівав чотири місяці (Літопулу-Цанетакі, 1990). *Lb. plantarum* (56,9 %) і *Lb. paracasei* (37,2 %) були основними виділеними видами із сиру з козячого молока Тенеріфе. *Lb.. plantarum* був присутній у високій пропорції в дводенному сирі, але знижувався під час дозрівання, тоді як *Lb. paracasei* присутній спочатку при низькій кількості, а потім збільшується під час дозрівання і був домінуючим видом *Lactobacillus* сиру у віці 60 днів (Zarate, Belda, Perez, & Cardell, 1997). *Lactobacillus plantarum* переважав під час печерного дозрівання (16–12 днів) сиру Cabrales (Nunez, 1978), тоді як *Lb. plantarum* і *Lb. brevis* були основними лактобактеріями виявлених в сирі Afuega'l Pitu (Cuesta, Fernandez- Гарк!я, Гонсалес де Льяно, Монтіла і Родр!ігес, 1996). Виявлені найпоширеніші види *Lactobacillus* в сирі Мажореро були ідентифіковані, *Lb. plantarum*, хоча *Lb. paracasei*, *Lb. brevis* і *Lb.fermentum* також були присутні в невеликих кількостях (Fontecha et al., 1990). Більшість лактобактерій, виділених із сиру Маон ідентифіковалися як *Lb. plantarum* (Рамос, Барнето, Суарес і Ініго, 1982). *Lactobacillus. paracasei* і *Lb. plantarum* були виділені найчастіше з коров'ячого молока (Centeno, Cepeda, & Rodriguez-

Otero, 1996) [17], також подібна популяція спостерігалася в сирі Армада [ 24, 25, 28].

До швейцарських сирів належать Емменталь, Грюйер, Аппенцеллер, Maasdamer, Jarbergost і Comt!e. Ці сири можуть виготовлятися з сирого, термізованого або пастеризованого молока. Жиль, Тернер і Мартлі (1983) повідомили, що нестартові молочнокислі бактерії збільшилися до кількості клітин, що перевищувала  $10^6$  КУО/г. Зростання нестартових молочнокислих бактерій в Swisstype-міні-сир з сирого та пастеризованого молока було повідомлено (Демаріньї, Бов'є, Дасен і Дюбо, 1996, Veuvier et al., 1997) [35, 37, 38]. Рівні цих бактерій в кінці дозрівання були вищими в сирому молочному сирі ( $10^8$  КУО/г), ніж в сирі, виготовленому з пастеризованого молока ( $10^6$  КУО/г).

Отже, нестартові молочнокислі бактерії були представлені складеною популяцією молодого сиру, насамперед *Lb. paracasei*, *Lb. plantarum*, але в міру дозрівання сиру *Lb. paracasei* став домінуючим представником флори в даних сирах. Дослідження чеддеру виробництва Великобританії після шести і дев'ять місяців дозрівання вказують на те, що *Lb. paracasei/lb.casei* і *Lb. plantarum* були домінуючими видами. Однак *Lb. curvatus*, *Lb. brevis*, *Lb. helveticus*, *Lb. fermentum*, *Lb. bif fermentans*, *Lb. buchneri*, також були виділені з кефіру [40]. Про це свідчать дані для багатьох досліджуваних сирів домінуючий вид змінюється під час дозрівання, при цьому *Lb. paracasei*, що переважає в пізніх термінах дозрівання.

#### **1.4.1. Пропіоновокислі бактерії у певних видах сирах**

Пропіоновокислі бактерії ростуть у багатьох сортах сиру під час дозрівання, і є характерною мікрофлорою, пов'язаною з сирами швейцарського типу, такі як Емменталь, Грюйер, Аппенцелль і Комте.

Пропіоновокислі бактерії є грампозитивними короткими паличкоподібними бактеріями, які метаболізують лактат [66].

Розрізняють дві великі групи в межах роду: «шкірні» і «класичні або молочні» пропіоновокислі бактерії. Пропіоновокислі бактерії класичні є найважливішими з точки зору мікробіології сиру, і на даний момент є п'ять видів, які визнані: *P. freudenreichii*, *P. jensenii*, *P. thoenii*, *P. acidipropionici* і *P. cyclohexanicum* і один *P. coccoides*, запропонованих (Вороб'єва, 1999) [65].

У сирі, виготовленому з сирого молока, достатньо часто присутні «дикі» пропіоновокислі бактерії. Однак з появою пастеризації пропіоновокислі бактерії гинуть і тому тепер їх додають до сирного молока до початку виготовлення, щоб переконатися, що вони є присутні приблизно на  $10^3$  КУО/г (Вороб'єва, 1999) [65]. Під час дозрівання сирів, температура підвищується від  $18 \pm 1$  °C до  $22 \pm 1$  °C протягом короткого часу до початку пропіоновокислого бродіння, а в кінці бродіння підвищується кількість пропіоновокислих бактерій до рівня від  $10^8$  до  $10^9$  КУО/г сиру (Steffen et al., 1993). Проходять сири швейцарського типу пропіоновокисле бродіння через 20-30 днів після виготовлення, а також вироблені пропіонова та оцтова кислоти сприяють розвитку характеру аромату цих сирів, а CO<sub>2</sub>, що виділився відповідає за утворення великих вічок. Після розвитку достатньої кількості вічок, сир зберігається при більш низьких температурах, щоб уповільнити подальше зростання і знизити метаболізм пропіоновокислих бактерій.

Було продемонстровано, що ріст пропіоновокислих бактерій у середовищі на основі молока був поганим (Baer, 1995) [4]; однак зростання можна було б стимулювати наступним чином: протеоліз сичужним ферментом і закваскою. Нещодавно було повідомлено (Piveteau, Condon, & Cogan, 2000) [20, 23], що зростання пропіоновокислих бактерій в молоці або сироватці не відбувалося, якщо початкова кількість клітин була  $>10^6$  КУО/мл. Повідомлялося, що інгібування пов'язане з термостабільністю інгібітора, який, присутній у сироватці. Попереднє зростання деяких молочнокислих бактерій, які використовуються, як закваски для швейцарського сиру, в



молочному середовищі знімало гальмування, що пояснює, як розвиваються пропіоновокислі бактерії у швейцарському сирі з низькою кількістю клітин даного виду бактерій і наявності інгібітора в молоці.

У сирі Грана, де пропіоновокислі бактерії можуть призвести до пізнього вспучування, пошкоджені клітини *P. freudenreichii* були виявлені скануючим електронним мікроскопом, що свідчить про те, що саме в цьому сирі автоліз середовища відбувся [10, 12].

Взаємодія між пропіоновокислі бактерії та іншими бактеріями відіграє значну роль під час дозрівання сиру. Виявлено, що дев'ять з двадцяти двох штамів молочнокислих бактерій, які були протестовані були антагоністичними для пропіоновокислих бактерій. *L. lactis ssp. lactis* мав найбільший гальмівний ефект, тоді як *L. lactis ssp. cremoris*, *S. thermophilus* і *Lb. helveticus* були сумісні з *P. freudenreichii* і *P. shermanii*. Вчені [15, 16] повідомили, що *Lb. rhamnosus* і *Lb. casei* гальмував зростання *P. freudenreichii* у твердому сирі швейцарського типу.

#### **1.4.2. Мікроорганізми поверхні сиру**

Дозрілі сири випускають у відносно великих розмірах в багатьох європейських країнах і характеризуються шляхом розвитку мазка бактерій і дріжджі на поверхні сиру під час дозрівання.

У першому, старий або дозрілий сир промивають розсолем-розчином, який потім використовується для інокуляції поверхні молодого сиру. Це також прищепить молодий сир небажаними бактеріями, у тому числі потенційними патогенами, якщо вони є також присутні на старому мазку. Це називається старим метод молодого намазування і традиційно використовується в Німеччині.

У другому способі молодий сир навмисно щеплюють однією або кількома комбінаціями з *Brevibacterium linens*, *Geotrichum candidum* або *Debaryomyces hansenii* після засолювання. РН поверхні сиру становить 5,0 і сир зазвичай дозріває при температурі  $12-16 \pm 1$  °C при відносній вологості

повітря > 90 %. Ці умови є результатом швидкого розвитку мікрофлори мазка, що також сприяє поширенню мікроколоній, які розвиваються на поверхні, що протирається тканиною, змоченою в розсолі кожні два-три дні [16, 66].

Зазвичай вважають, що дріжджі ростуть протягом перших кількох днів дозрівання, повністю окисляючи лактат до CO<sub>2</sub> і H<sub>2</sub>O. Дріжджі також дезамінують амінокислоти до відповідних кетокислот і NH<sub>3</sub>, що викликає сприятливе рН поверхні для кращого росту бактерій. Підвищення рН може бути відносно швидким, наприклад рН поверхні сирів Тільзіт підвищується від з початкового рівня 5 до >7,5 у перші 10 днів дозрівання (Eliskases-Lechner & Ginzinger, 1995). У цьому сирі, солетолерантні бактерії збільшуються зі 10<sup>4</sup> до 10<sup>9</sup> КУО/см<sup>2</sup> в перші три тижні дозрівання, після чого їх кількість залишається незмінною протягом наступних п'яти тижнів. Кількість дріжджів була значно нижчою і зростала зі 10<sup>3</sup> до 5 10<sup>7</sup> КУО/см<sup>2</sup> протягом двох тижнів, після чого вони поступово зменшувалися. Прийнято вважати, що *B. linens* є основними бактеріями, що ростуть на поверхні дозрілого сиру. Однак останні дослідження показали, що декілька мікрококів (*M. luteus*, *M. lylae*, *Kocuria kristinae* та *K. roseus*), стафілококи (*Staph. equorum*, *Staph. vitulus*) і коринеформні бактерії (*Arthrobacter citreus*, *A. globiformis*, *A. nicotianae*, *B. Imperiale*, *B. fuscum*, *B. oxydans*, *B. helvolum*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *C. betae*, *C. insidiosum*, *C. variabilis*, *Curtobacterium spp.*, *Microbacterium spp.* і *Rhodococcus fascians*) також зустрічаються на поверхні цих сирів [40, 44, 46, 48].

Етап дозрівання, при якому ці бактерії були виділені, не відбувається ясно. Останні дані показують, що відбувається прогресування бактерій на поверхні, наприклад стафілококи є основними мікроорганізми, виявлені на початку дозрівання (протягом чотирьох днів) і замінюються коринеформними бактеріями на 16 день дозрівання.

### 1.4.3. Роль цвіль і дріжджів у технології виробництва сиру

Плісняви мають важливе значення для дозрівання ряду сирів. Зрілі з цвільлю сири поділяють на дві групи: ті, які дозрівають завдяки наявності *Pencillium roqueforti*, який росте і утворює сині жилки всередині сиру, наприклад Рокфор, Горгонзола, Стілтон і датський блакитний, і ті, що дозріли з ручкою. *Camemberti*, який росте на поверхні сири, такі як камамбер і брі [66].

Дріжджі містяться в різноманітних сирах, однак у більшості випадків їх роль у дозріванні сиру є незрозуміло (Фліт, 1990). Низький рН, низький вміст вологи, низька температура та високий рівень солі дозріваючого сиру сприяють зростанню дріжджів. Дріжджі, які метаболізують лактат у присутності відносно високої концентрації солі, ростуть протягом ранніх днів дозрівання дозрілих сирів [43, 44]. Кількість дріжджів на поверхні залишається постійною або незначно зменшується під час дозрівання. Багато комерційних препаратів для обробки поверхні містять такі види дріжджів, як *G. candidum*, *Candida utilis*, *Debaryomyces hansenii*, *Kluveromyces lactis*.

Дослідили дріжджі, що містяться в кількох різних сирах. Встановлено, що *Debaryomyces hansenii* були домінуючими дріжджами і зустрічалися впрактично всіх сирах включаючи Weinkase, Romadour, Лімбург, Тільзіт, Рокфор, Кабралес, Камамбер. Наступними за значенням видами були *K. lactis*, *Yarrowia lipolytica* і *Trichospora beigeli*. *Debaryomyces hansenii* також є домінуючим видом у датському блакитному сиру [61]. Чи відбувається збільшення видів дріжджів під час дозрівання не зрозуміло, оскільки у багатьох із них стадія дозрівання на якій перебували дріжджі ізольовано не було визначено. До цього питання зверталися вчені, які виявили, що *Debaryomyces hansenii*, *Zygosaccharomyces* spp., *Y. lipolytica* та *Cn. rugosa* були домінуючим видом у датському блакитному сирі під час дозріває 1 і 14 днів, поки тільки *D. hansenii* і *Cn. rugosa* були виявлені через 28 днів дозрівання [62].

Дріжджі позитивно впливають на розвиток смаку і текстуру [63]. У Рокфорі, деяке поверхнєве дозрівання пояснюється протеолітичною

активністю поверхневого шламу, що складається частково з дріжджі, які очищаються перед пакуванням [54, 55, 56]. Виробництво газу гетероферментативними молочнокислими бактеріями особливо *leuconostoc*, стимулювався дріжджами, що призвело до сирної відкритості, і було визнано важливим для подальшої розробки пеніцилію і, отже, гарного смаку.

Отже, з літератури відомо, що сир – це дуже багатокомпонентна мікробна екосистема, і у більшості сирів розвиваються дуже складні різновиди мікрофлори. Велику роль у сирі під час дозрівання відіграє мікрофлора. Однак через складність мікрофлори і взаємодії, що відбуваються між окремими його компонентами підбір штамів для виробництва сиру дуже складний процес. Коли мікроорганізми можуть бути використані в харчових продуктах, вони мають бути непатогенним і з GRAS (безпечний статус). Останнім часом питання безпеки цих дріжджів були ретельно обговорені оцінено і позначено як «безпечний у використанні» організми. Аспекти щодо безпечності дріжджів очевидні, оскільки вони за своєю природою асоціюються з молочними, м'ясними продуктами, і дріжджова біомаса є безпечною харчовою речовиною (добавка, що споживається, як харчові продукти та корми).

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Заплановані дослідження за темою кваліфікаційної роботи проводились відповідно до календарного плану освітньої програми магістр «Харчові технології» на кафедрі харчової біотехнології і хімії ТНТУ.

Метою роботи було обґрунтувати доцільність використанні штамів *Y. lipolytica* для покращення смаку, протеолітичної та ліполітичної активності мікрофлори сиру для скорочення терміну його дозрівання.

Об'єкт дослідження – молочнокислі закваски, дріжджі *Y. lipolytica*, технологія сиру, біохімічні зміни в сирі.

Предмет дослідження – технологічні зміни у сирі з дріжджами *Y. lipolytica* за його дозрівання.

Методи досліджень: аналітичні, мікробіологічні, фізичні, біохімічні, статистичні.

Робота включала п'ять експериментальних етапів дослідження.

#### **2.1. Етапи досліджень**

Аналітичний етап дослідження представлений чотирма підрозділами, які аналізують технологію сичужних сирів та роль різних груп мікробіоти закваски та сторонніх мікрорганізмів на процеси формування структури, органолептики та якості готового виробу. Крім того у даному підрозділі описуються методи, які можна застосовувати для контролю мікробіологічних процесів.

У другому експериментальному розділі наводяться дані щодо придатності молока-сировини для виробництва сиру, зокрема за кількістю МАФАНМ, кількістю соматичних клітин, пробою на утворення згустку (сичужна), наявності антибіотиків. У результаті даних досліджень встановлено, що використане нами молочна сировина належить до екстра гатунку.

Експериментальна частина наукового дослідження була розділена на п'ять самостійних етапів, які схематично наведено на рис. 2.1.

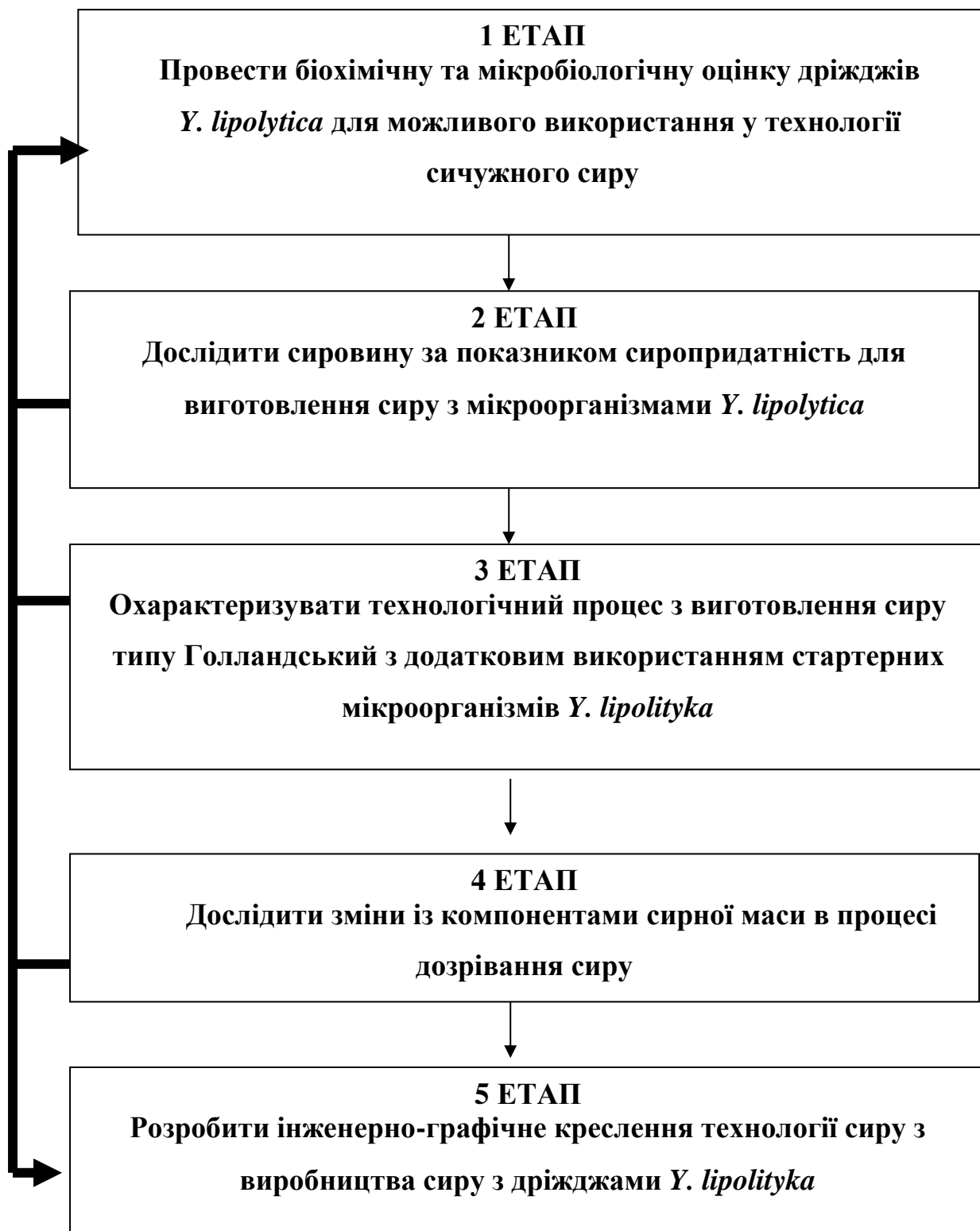


Рис. 2.1. Схема виконання експериментальної частини кваліфікаційної роботи

У третьому етапі роботи було проведено характеристику технологічного процесу з виготовлення сиру типу Голландський з додатковим використанням стартерних мікроорганізмів *Y. lipolytica*. Тобто у даному підрозділі роботи описано схему виробництва сиру.

Четвертий етап включав дослідження змін із компонентами сирної маси в процесі дозрівання сиру. Зокрема визначали у процесі дозрівання наступні параметри: утилізація лактози, зміни кількості заквасочних лактобактерій та *Y. lipolytica*, активну кислотність та здатність мікробіоти продукувати етанол. Крім того було визначено наявність продуктів білкового розпаду у сирі.

Пятий завершальний етап мав на меті здійснити інженерно-графічне креслення цеху з виробництва сиру з дріждами *Y. lipolytica*

## **2.2. Методи досліджень**

Дослідження молочної сировини проводили на визначення обсіяння бактеріями проводили згідно практикуму [66] та ДСТУ 7357:2013 [67]. Уміст антибіотиків визначали за промисловим комерційним тестом Шарм Роза *MRL* тест. Соматичні клітини за загально визнаним способом Прескотта і Бріда.

У сирі за його дозрівання проводилося контролювання кількості лактози та азотистих сполук за біохімічним практикумом [68], мікробіологічні показники (кількість молочнокислої мікробіоти та зміни дріжджів *Y. lipolytica*) за стандарними мікробіологічними методиками [67].

## **2.3. Статистичний аналіз**

Усі отримані результати у дослідях були опрацьовано відповідно до статистичних методів за компютерною програмою Statistica 8. Вилічини вважали достовірними  $p < 0,05$ .

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

#### 3.1. Особливості біохімічної та мікробіологічної оцінки дріжджів *Y. lipolytica* для можливого використання у технології сичужного сиру

*Yarrowia lipolytica* – це аскоміцетний вид дріжджів, який зараз інтенсивно вивчається. Дріжджі зазвичай живуть в гідрофобних середовищах, що містять субстрат. Дріжджі також використовують обмежений спектр цукрів, спиртів, цукрових спиртів та органічних кислот. Добре переносять фізичні параметри, такі як наявність солі, низькі температури, кислотні та лужні рН. Більше того, він за своєю суттю виробляє позаклітинні ферменти як протеази, ліпази, естерази, фосфатази та РНКази, які допомагають його зростання в різних умовах.

Велика кількість дріжджів широко асоціюється з молочним середовищем (сири, які тривалий час проходять дозрівання). Такі штами, як *Y. lipolytica* добре переносять низькі температури і високий вміст солі. Вони можуть засвоювати лактозу, галактозу, лактат і лимонну кислоту. *Y. lipolytica* проявляє сильну протеолітичну та ліполітичну активність, що сприяє розвитку текстури та аромату в процесі дозрівання сиру. Ці особливості є відповідальними для наступних змін, що відбуваються в процесі виробництва сиру.

Гідроліз казеїну вимагає дії протеаз, які часто забезпечуються асоційованими з сиром штамами *Y. lipolytica*. Протеолітичне розщеплення  $\alpha$ 1-казеїну та  $\beta$ -казеїну протеазами *Y. lipolytica* утворює пептиди та вільні амінокислоти [20, 23, 68]. Ці кінцеві продукти мають особливе значення в виготовлення блакитних сирів [29, 30]. Пеніцилінові види, пов'язані з цими сортами, метаболізують амінокислоти і виробляють  $\text{NH}_3$ . Це, в свою чергу, знекислює сир і сприяє його антимікробній дії. Деякі штами також демонструють хороший амінобіогенний потенціал, який проявляється в



продукуванні декарбоксилату орнітину, фенілаланіну, тирозину і лізину (Гардіні та ін., 2006).

*Y. lipolytica* продукує кілька типів ліпаз і естераз. Таким чином, дріжджі вважаються основним чинником ліполітичної діяльності, яка пов'язана з процесами дозрівання сиру. Деякі штами також проявляють сильну ліполітичну активність при низьких температурах, в результаті утворюється велика кількість вільних жирних кислот (пропіонова, масляна, міристинова, пальмітинова, пальмітолеїнова, стеаринова та олеїнова) [37, 38]. Вважається, що деякі з цих вільних жирних кислот є відповідальними за сенсорні характеристики сиру. Бутанова кислота також відповідає за виникнення смаку у таких сортах, як сир Чеддер і Камамбер [30]. Аромат даних видів сирів утворюється за рахунок різноманітних летких сполук, які окремо не відображають загальний запах. Ці сполуки виробляються під дією мікробних ферментів під час розкладання лактози, ліпідів та білків в сирі. У природних біологічних системах наприклад, дозрівання сиру в розсолі, мікрофлора може дати початок до ряду летких метаболітів, які можуть сприяти аромату і смак готового сиру. Загалом, спирти, альдегіди, кетони та складні ефіри сприяють смаку.

Отже, ліполітична і протеолітична активність, яка пов'язана з цими дріжджами зумовлює розщеплення жирових тканин і білків і тим самим сприяють появу смаку та аромату. Підбір нової функціональної закваски з бажаними промисловими або поживними властивостями є актуальним у розробці сучасних ексклюзивних сирів. Бажаний вибір мікроорганізмів здатний генерувати ароматичні молекули, що благополучно впливають на здоров'я, особливо бактеріоцини та протимікробні сполуки є важливі у технології сирів.

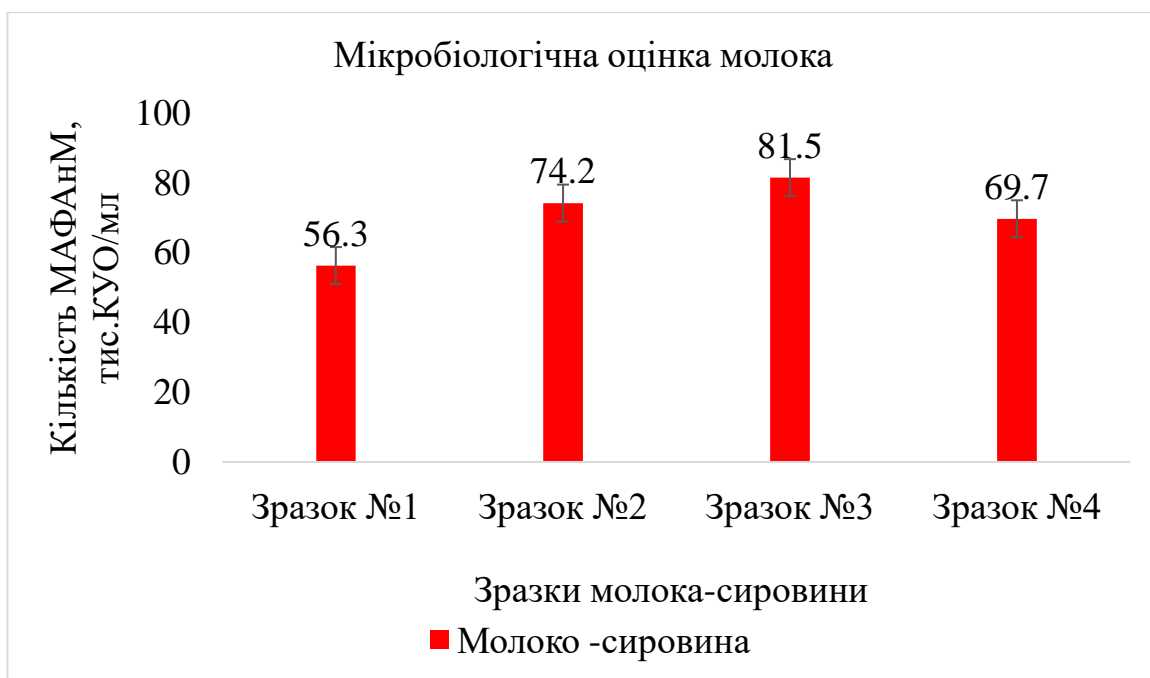
Таким чином, мета цього дослідження полягає в можливому використанні штамів *Y. lipolytica* для покращення смаку, протеолітичної та ліполітичної активності мікрофлори сиру для скорочення терміну його дозрівання.

### **3.2. Дослідження сировини за показником сиропридатність для виготовлення сиру з мікроорганізмами *Y. lipolytica***

Особливою передумовою щодо виробництва сиру високі якості за мікробіологічною та сенсорною оцінкою є застосування сировини і додаткових компонентів доброго гатунку. Технологія твердих сичужних сирів передбачає використання, як основну сировину – це молоко, яке для виробництва даного продукту має вирішальне значення, особливо за співвідношенням мікробіоти. Якісний за усіма параметрами виготовлений сир може бути тільки з молка, яке має високі гігієнічні стандарти. Тому на молокопереробних підприємствах, які спеціалізуються на технології сирів – молочна сировина вважається складовою, яку необхідно всесторонньо дослідити перед початком технологічного процесу. Оскільки, ми у своїй роботі плануємо ввести активну культуру *Y. lipolytica* (дріжджі) у виробництво сиру сичужного типу Голандського, де використовують низький температурний режим другого нагрівання зерна сирного, то в такому випадку контролювання молочної сировини має передусім вирішальне значення. На рисунку 3.1. нами представлено отримані дані щодо гатунку молока, яке було використане у дослідженні.

З аналізування даних рис. 3.1, можна сказати, що для виробництва сиру було використане молоко, яке характеризується високими санітарними показниками за забрудненням МАФАНМ. Зокрема, усі перевірені нами зразки молочної сировини відповідно до нині діючого стандарту (3662 : 2018) належать до екстра гатунку. Даний гатунок молока передбачає максимум кількості мезофільної мікрофлори – це до 100 тис. мікробних клітин у мл. У наших дослідженнях усі чотири проби молока були з кількістю від 56,3 тис. КУО/мл до 81,5 тис. КУО/мл. Така кількість мікрофлори у сирому молоці є результатом суворих гігієнічних заходів, які запроваджені по всьому технологічному режимі від отримання його і до транспортування технікою із

застосуванням охолодження. Крім того незначна кількість мікрофлори дає підстави до можливо застосування не високих режимів пастеризації.



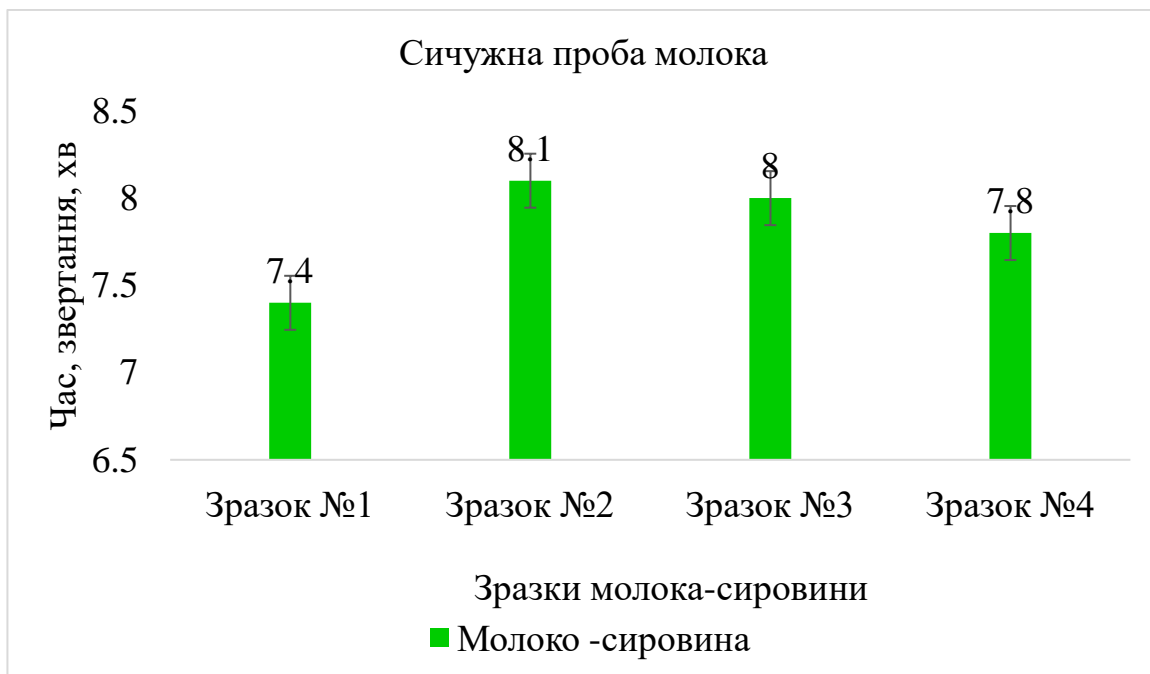
**Рисунок 3.1. – Аналіз мікробіологічної якості млочної сировини, що була використана у дослідженнях**

Низькі режими пастеризації дозволяють залишитися життєздатними молочнокислим мікроорганізмам, які потім впливають на процеси часткового «дозрівання» молока перд технологією виробництва сиру. У «дозрілому» молоці краще розвиваються стартерні молочнокислі мікроорганізми, які ми вносимо відповідно до технологічного процесу окремо взятого виду сиру.

Отже, молоко, яке було використане у дослідженнях з виробництва сиру за мікробіологічними показниками, вважається придатним щодо застосування у подальших дослідженнях.

Крім мікробіологічного чинника, який займає одне із ключових значень у з'ясуванні якості молока-сировини, також при виготовленні сиру надзвичайно велика роль приділяється такому біохімічному показнику, як його сиропридатність. Тобто піддаватися процесу коагуляції (звертанні) за умови впливу на нього сичужного ензиму. Саме ця проба характеризує молочну сировину чи вона буде добре звертатися і утворюватися сирний згусток за

технології його виробництва (типу Голандського сиру з мікроорганізмами *lipolytica*). Результати експериментів, які ми провели для визначення сиропридатності молока представлені на рис. 3.2.



**Рисунок 3.2. – Аналіз сиропридатної якості (сичужної проби) молочної сировини, що була використана у дослідженнях**

З аналізу даних, які ми отримали (рис. 3.2) видно, що молочна сировина характеризувалася високими показниками сиропридатності. Оскільки у всіх дослідних зразках відмічається час утворення згустку до 10 хв. Молоко з таким часом звертання молока за прийнятою класифікацією є дуже добрим для виробництва сиру (висока сиропридатність). Передбачається, що під час його використання у технологічному процесі стартерні молочнокислі мікроорганізми закваски будуть активно розвиватися, а коагуляційний сирний згусток матиме міцну консистенцію з якого сироватка буде чудово видалятися.

Таким чином, у запланованій нами технології виробництва сиру сичужного на звичайній заквасці та додатковим вмістом мікроорганізмів *У*.

*lipolytica* буде використовуватися молочна сирована, яка за сичужнопридатною пробою відноситься до високоактивної.

Інші важливі показники, які впливають на технологію сироваріння, такі як наявність у молочній сировині антибіотиків і інгібувальних препаратів, надмірна кількість соматичних клітин, нами також було визначено, проте отримані результати виявили наступне. У швидких методиках з використанням Шарм Роза *MRL* тесту, антибіотиків бета-лактамної групи не було виявлено. У класичному – стандартному цитологічному методі (Прескотт і Бріда) з визначення соматичних клітин було встановлено, що їх вміст знаходився у межах 180,7 – 249,5 тис. / мл молока. Це вказує, що таке молоко також належить за цим показником до гатунку екстра, так як норма для нього до 400 тис./мл.

Підсумовуючи дослідження підрозділу 3.2, можемо сказати, що за головними показниками, які передбачають оцінку молока сировини у технології виробництва сичужного сиру молочна сировина відмінної якості.

### **3.3. Характеристика технологічного процесу з виготовлення твердого сиру типу Голандський з додатковим використанням стартерних мікроорганізмів *Y. lipolytica***

Враховуючи те, що метою кваліфікаційного дослідження було передбачено виробництво твердих сирів типу Голландський (низький режим другого нагрівання) з додатковим застосуванням дріжджових клітин *Y. lipolytica* для швидшого процесу дозрівання сиру, то внизу нами наводиться детальну техсхема, яка характеризує саме дану технологію експериментального сиру (рис. 3.3).

У нашому випадку ми вносили у якості заквашувальної композиції промисловий комплекс FD DVS DCC-250 плюс дріжджові мікроорганізми виду *Y. lipolytica* для посилення ліполітичних і протеолітичних змін у кількісному співвідношенні лактобактерій та дріжджів 1:1.



**Рисунок 3.3. – Технологічна блок-схема виготовлення сиру типу «Голландського» з дріжджами виду *Y. lipolityka***

Розрізання згустку проводили протягом  $21 \pm 4$  хв, становлення коагулюючого зерна такого розміру від 3 до 4 мм проводили при температурі  $37 \pm 1$  °С протягом  $31 \pm 9$  хв, відповідно невисоке друге нагрівання здійснювали за режимів температури в діапазоні  $46 \pm 2$  °С протягом  $16 \pm 4$  хв, обсушування згустку (сирного зерна) здійснювали при температурі  $47 \pm 1$  град. Целсія протягом  $41 \pm 9$  хв, часткове соління у зерні – додаванням до суміші згустку (сирного зерна) з сироваткою солі класу «Екстра» у кількості від 299 до 399 г на 100 кг суміші.

Формування твердого пресуючого сичужного типу Голандського сиру з додаванням клітин дріжджів виду *Y. lipolityka* здійснювали з пласта, самопресування сиру здійснювали за режимів температури від 18,5 до 20,5 °С при цьому час становиви  $54 \pm 4$  хв, наступне стискання (пресування) – при тиску, який був у такому діапазоні від 1,4 до 2,3 кг/см та температурному діапазоні від 17,5 до 19,5 °С протягом 90 – 120 хв, досолювання твердого сичужного пресуючого сиру вмістом дріжджових клітин виду *Y. lipolityka* проводили у розсолі з концентрацією кухонної солі в межах від 17 до 19 % при температурі  $11 \pm 1$  °С протягом  $15 \pm 1$  год. У процесі визрівання твердого сичужного сиру з вмістом дріжджових клітин виду *Y. lipolityka* та контрольного зразку, вироблених у промислових умовах, контролювалася динаміка зміни наступних визначених нами показників: масова частка лактози; вміст розчинного білкового та небілкового азоту; зміну кількості лактобактерій та вмісту дріжджових клітин *Y. lipolityka* в 1 г продукту; формування органолептичних показників.

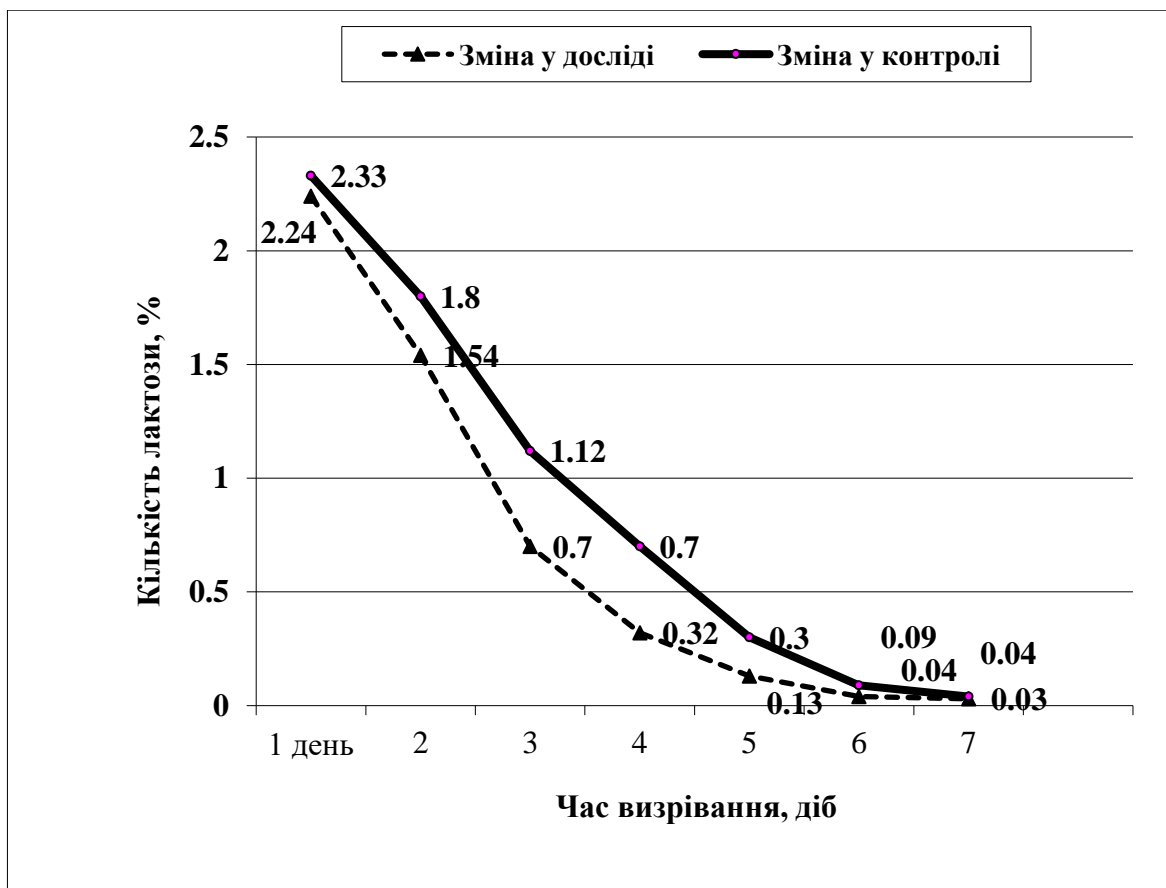
### **3.4. Дослідження змін із компонентами сирної маси в процесі дозрівання**

#### *3.4.1. Зміна лактози*

Загально відомо з літератури про хімію молока [68], що основним представником вуглеводів у твердих сирах є лактоза. Біохімічні зміни з

лактозою розпочинаються з моменту зсідання молока у наслідок активності стартової заквасочної бікробіоти (молочнокисле бродіння) дані процеси продовжується упродовж оброблення згустку та сирного зерна, формування, самопресування, пресування, соління та визрівання сиру.

Дослідження щодо зміни вуглеводу лактоза за процесу дозрівання експериментального зрізця сиру з доданою дріжджовою мікробіотою – виду виду *Y. lipolityka* нами представлено на рис. 3.4.



**Рисунок 3.4.** – Динаміка зміни лактози за дозрівання експериментального зразка сиру типу «Голландського» з дріжджами виду *Y. lipolityka*

Дані (рис.3.4) дають нам порівняльний аналіз щодо того, що у експериментальному зразку сиру з клітинами доданих дріжджів (*Y. lipolityka*) процес зниження лактози, проходив дещо швидше, проти зразка порівняння (контролю). Зокрема уже на третю добу дозрівання кількість лактози у зразку експериментальному зменшилася з  $2,24 \pm 0,04$  % до  $0,7 \pm 0,1$  %, тобто менше



в 3,2 раза, ніж на початку процесу. Водночас, у зразку порівняння за цей час зменшилася з  $2,33 \pm 0,02$  % до  $1,12 \pm 0,02$  %, тобто зниження відбулося в 2,1 раза, або в 1,5 раза процес утилізації лактози проходив у експериментальному взірці, проти взірця порівня за три доби.

На п'яту добу дозрівання двох сирів кількість лактози ще знизилася і в експериментальному взірцеві вона становила  $0,13 \pm 0,01$  %, а в зразку порівняння –  $0,30 \pm 0,03$  %. Тобто можна сказати, що кількість лактози у традиційному сирі була в 2,3 раза більша на п'яту добу. Це свідчить про те, що у експериментальному взірці на п'яту добу утилізація лактози майже завершилася або знаходилася на кінцевій стадії. Водночас у зразку порівняння ще наявна достатня кількість лактози для здійснення інтенсивного молочнокислого бродіння.

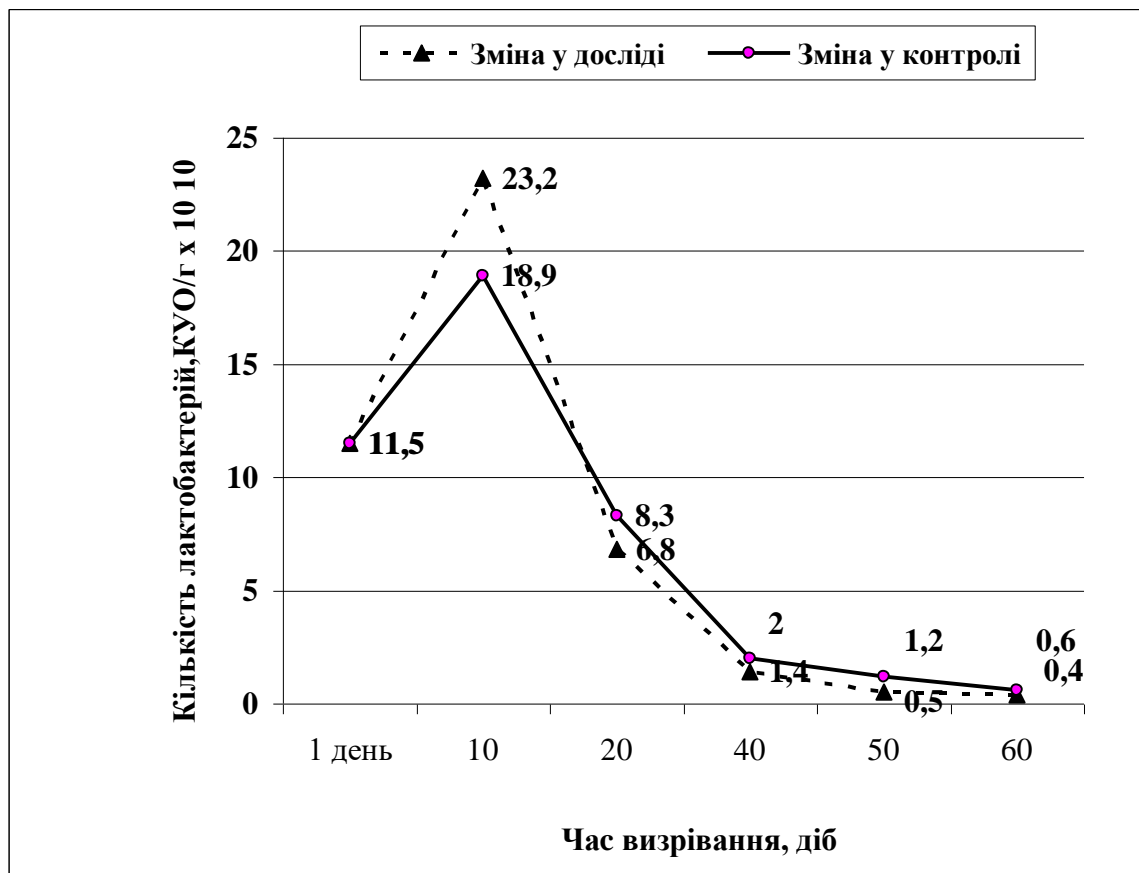
На шосту – сьому добу процесу дозрівання кількість лактози зменшилася до  $0,04 \pm 0,01$  % у експериментальному взірці та до  $0,09 \pm 0,01$  % у взірці порівняння. Тобто можемо констатувати що на цей період часу завершився процес утилізації бактеріями і дріжджами даного цукру.

Таким чином, можна відмітити, що у експериментальному взірці, який містить додатково до стартової молочнокислої закваски клітини дріжджів виду *Y. lipolytica* динаміка утилізації лактози перебігає інтенсивніше практично на дві доби, що на нашу думку зумовлено гліколітичною активністю саме внесених дріжджів.

#### 3.4.2 Зміна стартових молочнокислих заквасочних бактерій

У розділі «Огляд літератури» нами висвітлено питання ролі стартових молочнокислих бактерій у процесах дозрівання сичужного сиру. Зокрема повідомляється, що мікробіота закваски – це надзвичайно важлива жива субстанція, яка завдяки ферментативним процесам зумовлює зміни протеолітичного характеру у сиріному згустку. Ці зміни напряму залежать від активності цієї мікробіоти і розроблено багато методів, як класичних так і

молекулярних для контролю її у технології дозрівання сиру. Саме із її розвитком пов'язані бажанні біохімічні зміни і сир набуває відповідного смаку, запаху та утворюються вічка. На рис. 3.5 наведено дослідження з визначення кількісного вмісту цієї групи заквасочної мікрофлори



**Рисунок 3.5.** – Динаміка зміни лактобактерій за дозрівання експериментального зразка сиру типу «Голландського» з дріжджами виду *Y. lipolytica*

З наведених даних (рис. 3.5) відмічаємо, що молочнокисла мікробіота за десять днів дозрівання експериментального і контрольного зразка сиру перебувала в експоненціальній фазі росту, тобто клітини мікроорганізмів інтенсивно розмножуються та їх кількість значно перевищує кількість клітин, що відмирають. Однак, враховуючи такий процес всеж таки у експериментальному зразці кількість новоутворених клітин є більшою, проти лактобактерій у зразці порівняння, приблизно на п'ять мільярдів. Така кількість вважається доволі великою для появи більш відчутних змін у сирі, що дозріває.

Проте, із досліджень бачимо, з десятої доби процес розвитку молочнокислої мікробіоти у експериментальному та порівняльному взірці пішов униз. Тобто проходить фаза загибелі (деградації) клітин лактобактерій, яка пов'язана з нестачею живильних інгредієнтів вігледовневої природи у даному випадку – це лактоза. Яка як свідчать дані рис. 3.4 у цей термін майже вся була утилізована, саме цією мікробіотою. Тому починаючи з цього часу на двадцяті добу динаміка загибелі кислотоутворюючої мікробіоти приблизно була однаковою, що в експерименті, що у контролі. Кількість лактобактерій на п'ядесяті добу становила 5 та 12 млрд. клітин в грамі в експериментальному та взірці порівняння, відповідно.

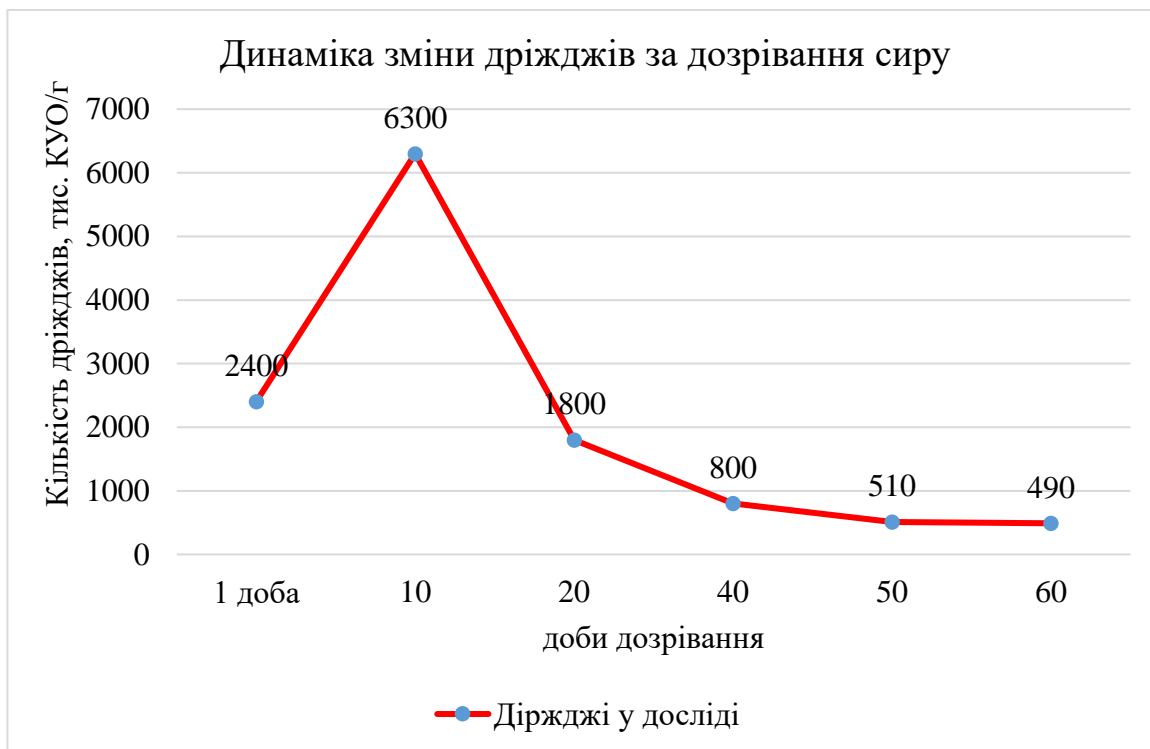
Отже, дослідження виявило, що інтенсивність заквасочної мікробіоти (лактобактерій), тобто їх розвиток протягом десяти днів перебуває у симбіозі з доданими дріжджами виду *Y. Lipolityka*. Це стимулює метаболізм лактобактерій у експериментальному сирі, тому їх більше у ньому.

### 3.4.3 Зміна дріжджів

Нами додано у технологію експериментального взірця сиру дріжджі *Y. lipolityka* для посилення процесів, які відбуваються у сирі що проходить стадію дозрівання. Адже клітини *Y. Lipolityka* є дуже активними продуцентами ензимів різних класів, які ферментують інгредієнти сирного згустку під час дозрівання. Тому ми хотіли перевірити чи ця додана культура дріжджів розвивається за такої технології виробництва сиру. Проведений дослід з контролю зміни *Y. Lipolityka* на деяких стадіях дозрівання сиру представлано на рис. 3.6.

З отриманих нами даних (рис. 3.6) ми відмічаємо, що повторюється класична динаміка активності клітин *Y. Lipolityka*, як загальної молочнокислої мікробіоти у сирі за його дозрівання. Протягом десятиденного періоду кількість клітин дріжджів геометрично збільшувалася, а після даного періоду крива пішла вниз, що свідчить про накопичення шкідливих метаболітів і згасання протеолітичних і ліполітичних змін за участі даних мікроорганізмів. Найбільшу кількість *Y. Lipolityka* спостерігали на 10 добу – близько 6,3 млн.

КУО/г, а вже на 40 добу дозрівання сиру дріжджі становили близько 800 тис. КУО/г. Процес відмирання їх відмічали аж до всього періоду тривалості досліду тобто до 60 доби, на цю дату кількість дріжджів становила близько 490 тис. КУО/г.



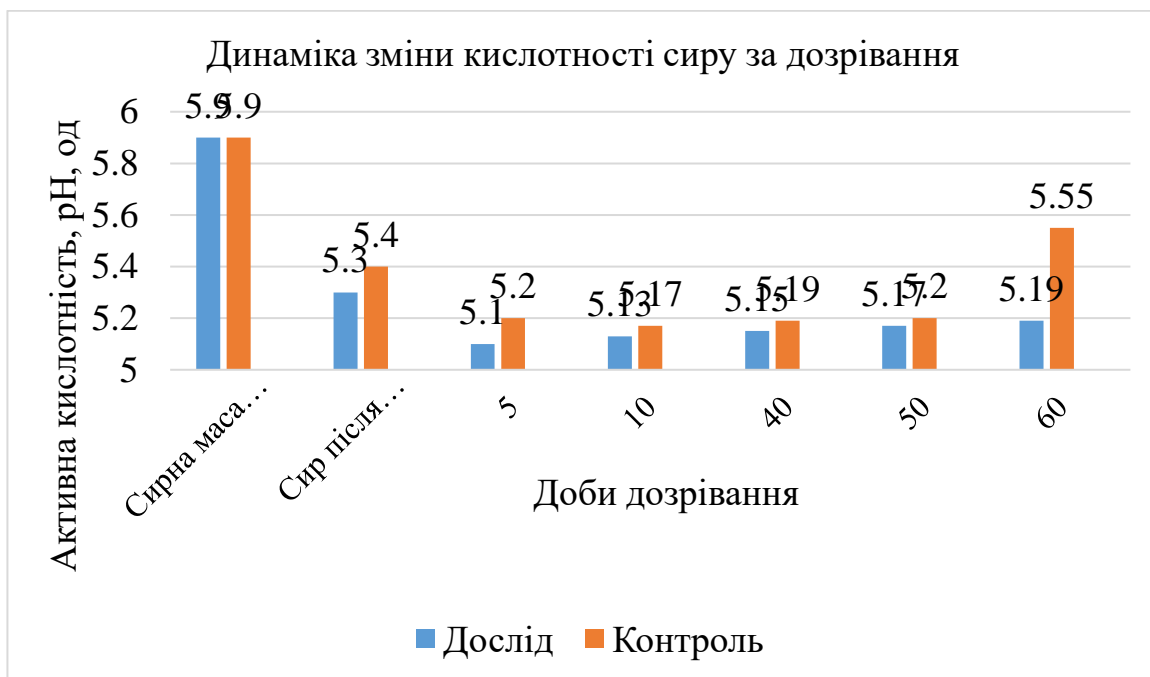
**Рисунок 3.6. – Динаміка зміни дріжджів за дозрівання експериментального зразка сиру типу «Голландського» з дріжджами виду *Y. lipolityka***

Отже, як підсумок цього дослідження можна відмітити, що у експериментальному зразку сиру, дріжджі, які і стартові лактобактерії практично мають аналогічну динаміку змін за час його дозрівання. Очевидно, вони перебувають між собою у симбіозі і зміни у сирі пов'язані, як з першими, так і з другими мікроорганізмами.

#### 3.4.4 Зміна активної кислотності

Наступною частиною експериментального дослідження в цілому було встановити зміни активної кислотності у сирах. Величина активної

кислотності має важливе значення для подальшого проходження ферментативних процесів у сири. Від кислотності залежать фізичні властивості сирної маси, тобто формування структури та консистенції готового продукту [36, 59]. Тому нами було досліджено зміну активної кислотності (рН) у експериментальному та взірці порівняння сиру. Результати отриманих даних представлено на рис. 3.7.



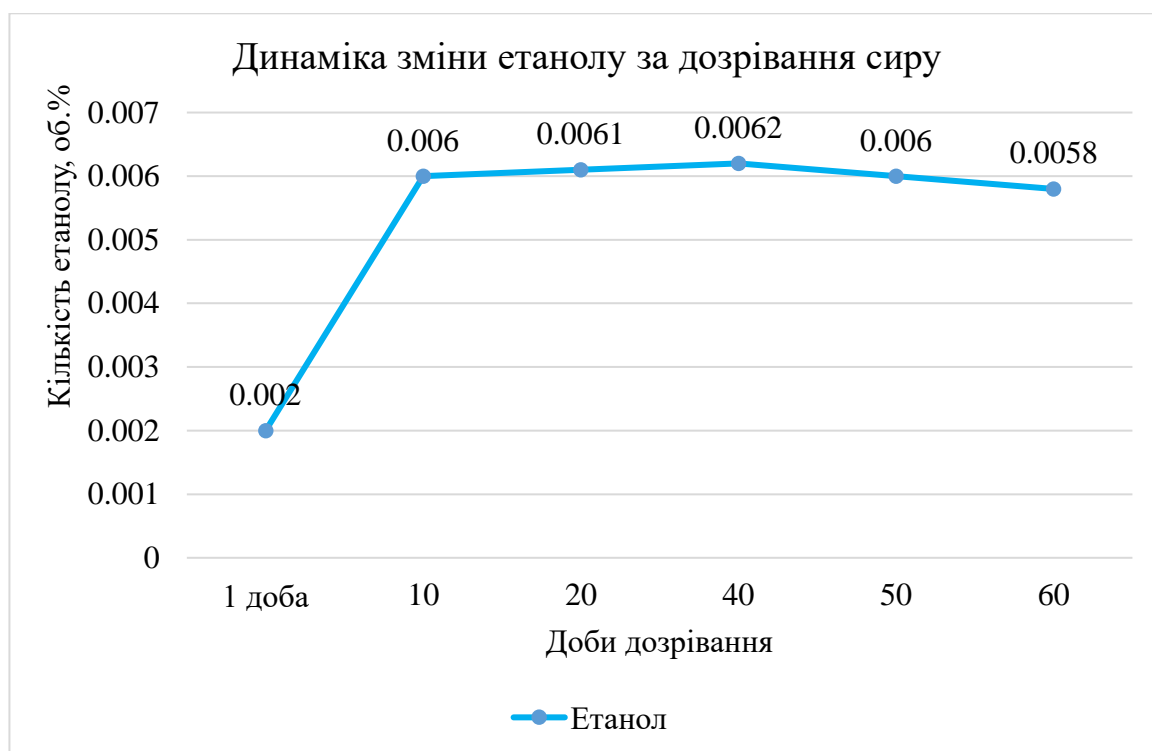
**Рисунок 3.7. – Динаміка зміни активної кислотності за дозрівання експериментального зразка сиру типу «Голландського» з дріжджами виду *Y. lipolytica***

З аналізу даних (рис. 3.7) проглядається тенденція, яка має загальний характер, тобто у двох взірцях сиру активна кислотність стрімко зменшувалася, як у експериментальному взірці, коли проходить дозрівання за участі клітин *Y. lipolytica* і стартової заквасочної мікробіоти, так і у взірці виготовленому тільки на стартовій заквасці. Однак, все ж таки відмінності відмічаються у взірцях, зокрема у експериментальному протягом усього визначеного нами шістдесятитодового терміну дослідження активна кислотність була практично на 0,15 од нижча, проти взірця порівняння.

Отже, дані даного досліджу, підтверджують участь у процесі дозрівання клітин *Y. lipolytica*, які як ми вважаємо приймають активну роль у ліполізі та інших біохімічних змінах, які зумовлюють створення відповідного органолептичного профілю продукту. Через їхню можливість розчеплювати більший спектр біологічних субстратів, на відміну від лактобактерій.

### 3.4.5 Зміна етанолу

Для досягнення технологічних параметрів одержання якісного продукту визначали динаміку зміни концентрації спирту (етанолу) у експериментальному взірці голландського сиру з клітинами дріжджів виду *Y. lipolytica* та у порівняльному взірці під час їх визрівання. Результати з цим дослідженням представлено на рис. 3.8.



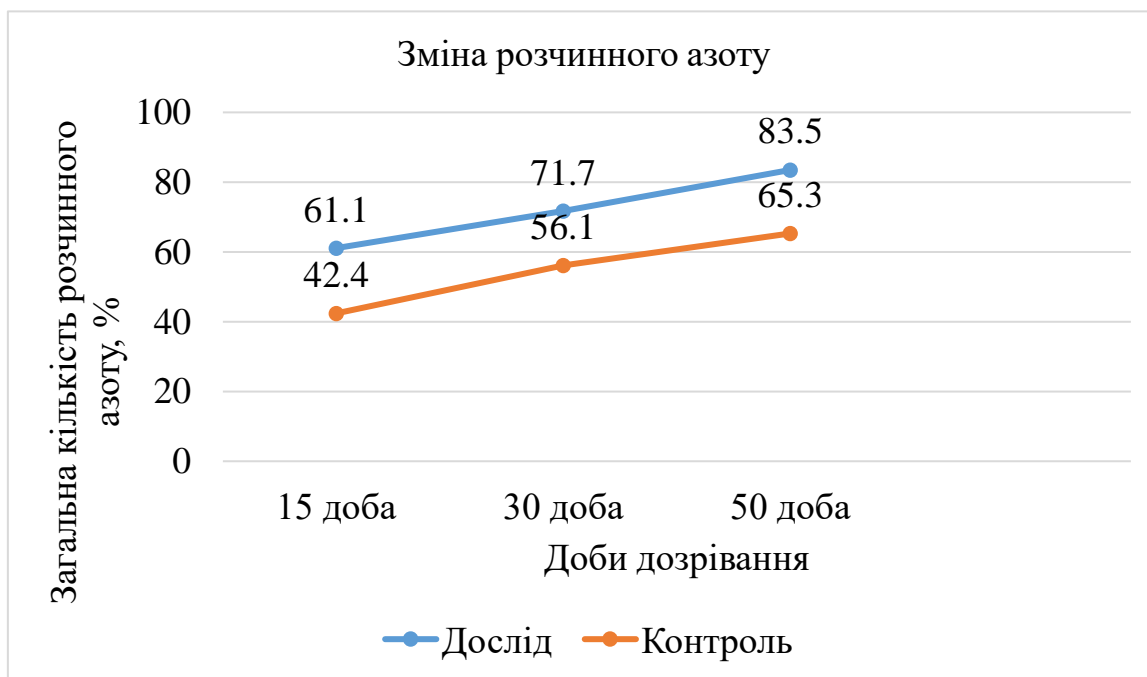
**Рисунок 3.8.** – Динаміка зміни етанолу за дозрівання експериментального взірця сиру типу «Голландського» з клітинами виду *Y. lipolytica*

З даних рис. 3.8 вбачається, що величина етанолу у нашому сирі з додаванням дріжджів клітин *Y. lipolytica* у технології визрівання не

перевищував такі дозволені рівні – 0,0058 % протягом шістдесятдобового періоду. Це засвідчує, що даний вид *Y. lipolityka* не приймає участі у спиртовому бродінні і етиловий спирт продукується дріжджами у незначній кількості. Результати дослідження спонукають до використання даного різновиду твердого голландського сиру для дієтичного харчування людям різних вікових категорій. У взірці порівняння голландського сиру, який виготовлений за традиційною технологією вміст етанолу не виявляли.

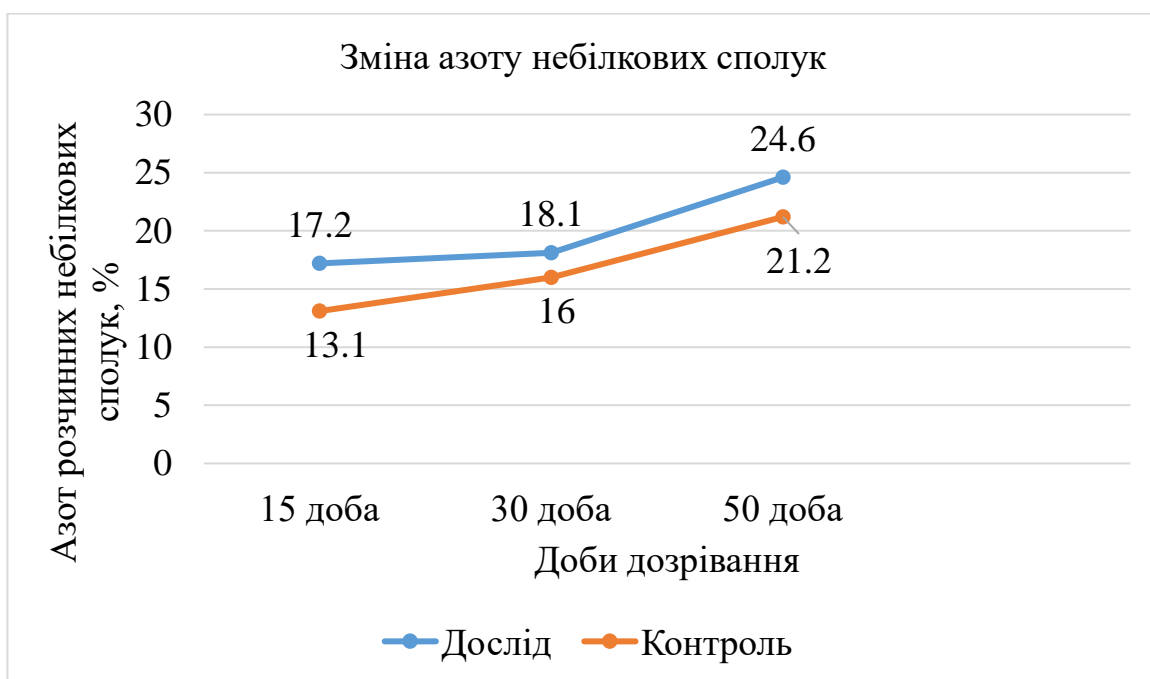
#### 3.4.6 Зміна продуктів білкового розпаду

Нами також оцінено дані взірці за продуктами білкового розпаду. Адже у процесі тривалого дозрівання проходять найрізноманітніші зміни окислення первинних метаболітів до більш простих речовин. Особливо піддаються розчепленню різні речовини білкового характеру, як за участі стартових заквасочних мікробіот, так і в даному процесі приймають введені клітини *Y. Lipolityka*, про які було зазначено, як сильні продуценти ензимів. Дані результати представлено на рис. 3.9. (а і б).



а) кількість загального розчинного азоту

З двох представлених рисунків (3.9 а і б), проглядається прямо виражена тенденція, щодо більшого розпаду білкових молекул у експериментальному зразці сиру, проти зрія порівняння. При цьому бачимо, що у експериментальному сирі загальна кількість азотистих речовин, які розчинні була  $83,5 \pm 0,3 \%$ , проти  $65,3 \pm 0,2 \%$  у зразці порівняння. Це є прямий доказ посиленого анаеробного процесу та того, що у першому зразці ферментація більш активна з допомогою *Y. Lipolityka*, проти зрія сиру виробленого тільки на молочнокислій мікробіоті.



**б) азот розчинних небілкових сполук**

**Рисунок 3.9. – Динаміка зміни азотистих речовин за дозрівання експериментального зразка сиру типу «Голландського» з дріжджами виду *Y. lipolityka*: а) кількість розчинного азоту; б) азоту розчинних небілкових сполук**

Аналогічні зміни спостерігалися у зразках щодо кількості небілкових сполук (рис. 3.9. б), які вказують, що експериментальний зразець з додаванням клітин *Y. lipolityka* більш швидко проходить технологію дозрівання, проти зрія порівняння.



Загалом отримані дані щодо даного дослідження в цілому свідчать на перспективність комбінації стартових заквасок для сирів різних видів у склад яких ми пропонуємо вводити дріжджі виду *Y. Lipolytica*. За нашими даними, саме додавання їх забезпечує інтенсивніший процес дозрівання такого сиру, як Голландський. Тому на підставі наших досліджень ці дріжджі дозволили на десять діб скоротити тривалість дозрівання сиру. Крім того сенсорна і органолептична експертиза даних експериментальних взірців сиру показала, що за смаком і запахом, рисунком і консистенцією він не поступався стандартним вимогам і традиційному сиру.

Враховуючи отримані дані було розроблено план цеху з виробництва сиру, апаратурно-технологічну схему та графік робочого процесу (Додатки).

## ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ

1. Обґрунтовано доцільність використання штамів *Y. lipolytica* для покращення смаку, протеолітичної та ліполітичної активності мікрофлори сиру для скорочення терміну його дозрівання.

2. Досліджено молочну сировину за головними показниками, які передбачають її оцінку для сиропридатності (КМАФАнМ, сичужна проба, кількість соматичних клітин, наявність антибіотиків) та виявлено, що молочна сировина – гатунку екстра.

3. Розроблено схему виробництва сиру з мікроорганізмами виду *Y. lipolytica* та встановлено, що в експериментальному взірці сиру з клітинами доданих дріжджів процес утилізації лактози, проходив в 1,5 раза швидше, проти взірця порівняння.

4. Інтенсивність заквасочної мікробіоти (лактобактерій), тобто їх розвиток протягом десяти днів перебуває у симбіозі з доданими дріжджами виду *Y. Lipolytica*. Це стимулює метаболізм лактобактерій у експериментальному сир, тому їх більше у ньому. Кількість лактобактерій на п'ятдесяту добу становила 12 та 5 млрд. клітин в грамі в експериментальному та взірці порівняння, відповідно.

5. У експериментальному взірці сиру протягом усього шістдесяти добового терміну дослідження, активна кислотність була практично на 0,15 од нижча, проти взірця порівняння. При визначені кількості етанолу у експериментальному взірці то його вміст був на рівні 0,0058 %, це вказує, що вид *Y. lipolytica* не приймає участі у спиртовому бродінні.

6. Виявлено прямо виражену тенденцію, щодо більшого розпаду білкових молекул у експериментальному взірці сиру, проти взірця порівняння. При цьому у експериментальному сирі загальна кількість азотистих речовин, які розчинні була  $83,5 \pm 0,3$  %, проти  $65,3 \pm 0,2$  % у взірці порівняння.

7. Запропоновано технологію виробництва сиру типу Голландського із закваскою дріжджів вид *Y. lipolytica*, які інтенсифікують процес дозрівання.

## РОЗДІЛ 4

### ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

#### **4.1. Розробка заходів безпеки праці за умови реконструкції цеху з виробництва твердого сиру**

Охорона праці на молокопереробних підприємствах здійснюється на підставі таких юридичних документів, як ЗУ «Про охорону праці», колективний договір, статут підприємства про сферу діяльності, інструкцій з охорони праці та посадових обов'язків з питань охорони праці [69].

Правила охорони праці поширюються на всіх працівників. На підприємстві управління охороною праці здійснює голова правління, а в підрозділах – начальники цехів, майстер. Існують первинний, повторний, позаплановий та цільовий інструктажі, які проводить керівник робіт, начальник виробництва, цеху, дільниці, майстер. При цьому працівник повинен:

- поповнити знання щодо правил безпечної експлуатації технологічного обладнання, технологічних інструкцій з охорони праці;
- оволодіти навичками орієнтування у виробничих ситуаціях при нормальних і аварійних умовах праці;
- засвоїти в конкретних умовах технологічні процеси і обладнання та методи безаварійного керування ними з метою забезпечення вимог охорони праці [70].

Відносини працівника і роботодавця щодо забезпечення безпечних умов праці регулюються Законом України “Про охорону праці” від 21 листопада 2001 року, а також іншими законами. Згідно до цього Закону України за організацію охорони праці на підприємстві відповідає голова правління, головний інженер, начальники цехів.

Голова правління повинен забезпечити організацію системи управління охороною праці. Інженер з охорони праці займається організацією і

комплексним контролем за станом охорони праці, а також розробкою інструкцій з безпечного виконання роботи [70].

В кожному цеху існують пункти з техніки безпеки, в яких проводяться інструктажі. При прийомі на роботу з усіма працівниками проводиться вступний інструктаж в кабінеті інженера з охорони праці. На кожному робочому місці є інструкції з охорони праці, аптечки та засоби індивідуального захисту. Колективним договором передбачається проходження медичного огляду працівниками за рахунок підприємства; забезпечення спецодягом, взуттям та засобами індивідуального захисту. На заводі передбачено пільги і компенсації за важкі та шкідливі умови праці. На підприємстві розроблені інструкції для безпечної роботи з обладнанням [69].

Фінансує охорону праці власник підприємства. Працівники не несуть ніяких витрат на заходи з охорони праці. Вони проводяться за рахунок амортизаційних відрахувань основних заходів та фонду з охорони праці.

На засіданні правління підприємства, яке проводиться щотижня інженер з охорони праці звітує про стан охорони праці на підприємстві та стимулювання робіт пов'язаних з охороною праці.

За належний стан охорони праці та розробку різних новацій на підприємстві видаються премії, виплачуються оздоровчі і лікарняні листи. Профком молокозаводу та служба з охорони праці забезпечують: оптимальний режим роботи та відпочинку працівників; безпеку виробничих процесів; працюючих засобами індивідуального і колективного захисту; підготовку та підвищення кваліфікації працівників з питань охорони праці [70].

З метою реалізації планової дії охорони праці на підприємстві впроваджена система трьохступеневого контролю за охороною праці. Слід відмітити, що в реалізації даної системи приймають участь не тільки керівники структурних підрозділів, представники профспілок, головні спеціалісти, а й голова правління підприємством.

Якщо працівники недотримують вимог охорони праці, комісія на чолі з головним інженером з охорони праці може винести догану чи звільнити з

роботи. Чи навпаки видати премію чи заохочення за певні досягнення і за активну участь в різних заходах. Випадків адміністративних і кримінальних покарань не відмічено. Однією з найважливіших умов боротьби з травматизмом є аналіз причин його виникнення [69]. Причини підрозділяються на:

- технічні – в більшості випадків виявляються в конструктивних недоліках устаткування, освітлення, несправності інструментів;
- організаційні - недотримання правил техніки безпеки, низька трудова дисципліна, неправильна організація праці.

Результат аналізу травматизму залежить від достовірності і ретельності оформлення актів про нещасні випадки.

Аналіз причин нещасних випадків на виробництві проводять з метою вироблення заходів щодо їх усунення і попередження. Для цього використовуються такі методи аналізу, як монографічний, топографічний і статистичний [70].

Щоб запобігти цим явищам здійснюють наступні заходи:

- огляд і ремонт обладнання;
- використання прокладних засобів та з'єднувальних деталей обладнання;
- забезпечення працюючих засобами індивідуального захисту.

*Таблиця 4.1-* Логічне моделювання небезпек в цеху з виробництва сирів

<b>Основні операції</b>	<b>Небезпечні умови</b>	<b>Небезпечна дія</b>	<b>Небезпечна ситуація</b>	<b>Наслідки</b>	<b>Заходи безпеки</b>
Обслуговування сепараторів	Незадовільний балансний препарат сепаратора	Працівник порушив вимоги експлуатації обладнання	Вихід з ладу сепаратора	Травми, переломи	Проводити своєчасний огляд, ремонт обладнання

Обслуговування сепараторів	До роботи допущено працівника, який погано знає правила експлуатації		Дії працівника можуть призвести до поломки обладнання і травм	Аварія, травм	Не допускати до роботи осіб, які погано знають правила експлуатації
Обслуговування сепараторів	Відсутність належного заземлення електродвигуна	Порушення персоналом встановлених норм експлуатації електродвигуна	Вихід з ладу електродвигуна	Електро-травми, опіки, механічні ураження	Своєчасний контроль і повірка контрольно-вимірювальних приладів
Пастеризація молока	Відсутність належного заземлення	Працівник порушив вимоги експлуатації умов обладнання	Пробій електропри воду і можливе ураження електричним струмом	Електро-ураження	Не працювати без заземлення
Термовакуумна лінія Tekovac 420C	Наявність електричного струму	Контакт з металевими частинами обладнання	Можливість враження електричним струмом	Електричне травмування	Заземлення обладнання, усунення електричного заряду, захисне відключення
	Присутність шуму	Знаходження працівника в зоні обслуговування	Вплив дії шуму на органи слуху	Часткова втрата слуху	Застосування засобів особистого захисту, звукоізоляція

*Заходи по попередженню небезпечної дії технологічних чинників в реконструйованому цеху.*

Працівники під час прийняття на роботу і в процесі роботи повинні проходити за рахунок роботодавця інструктаж, навчання з питань охорони праці, з надання першої медичної допомоги потерпілим від нещасних випадків

і правил поведінки у разі виникнення аварії.

Працівники, зайняті на роботах з підвищеною небезпекою або там, де є потреба у професійному доборі, повинні щороку проходити за рахунок роботодавця спеціальне навчання і перевірку знань відповідних нормативно-правових актів з охорони праці.

Керівник підприємства повинен періодично організовувати за узгодженням з санітарно-епідеміологічними станціями проведення вимірювань параметрів шуму, вібрації, освітлення, загазованості, запиленості у виробничих приміщеннях. Результати вимірів повинні заноситись до санітарно-технічних паспортів цехів та підприємства, карти робочих місць.

Розміщення виробничого обладнання повинно забезпечувати безпеку працюючих та відповідати ергономічній і технологічній раціональності. Арматура центрального чи місцевого опалення з температурою нагріву поверхні 80 °C та більше, що розміщена в робочих проходах та поблизу робочих місць, повинна бути загорожена, щоб уникнути випадкових опіків. Вологе прибирання електроприміщень та інших технічних приміщень повинні проводити прибиральники, які пройшли інструктаж з питань охорони праці, під наглядом одного з працівників, що обслуговують встановлене в цих приміщеннях обладнання [69, 70].

### **Висновки**

Отже, при реконструкції сирцеху з виробництва необхідно врахувати наступне: для виключення випадків травматизму необхідно своєчасно проводити навчання і інструктажі з охорони праці; дотримання правил експлуатації обладнання, вчасна заміна зношених деталей дає можливість поліпшити технологічний процес виробництва і створити сприятливі умови для праці.

## **4.2. Цивільний захист в надзвичайних ситуаціях**

На даний час посилюються хімічне, радіаційне, теплове, електромагнітне та інші види забруднень, що значною мірою впливають на

життєдіяльність людини і в першу чергу на її здоров'я та тривалість життя. Але вищезазначене забруднення оточуючого середовища містить в собі величезну потенційну небезпеку не тільки людині, але і наносить значну шкоду всьому живому [71].

Забруднення біосфери (грунту, води, повітря) стало загальнодержавною проблемою. На захист здорова людей, які перебувають в умовах екологічного забруднення повинні стати органи державної виконавчої влади, адміністрації підприємств, установ та організацій незалежно від форм власності і господарювання [72].

З цією метою в Україні створена система цивільного захисту, основне завдання якої полягає в захисті населення від небезпечних наслідків надзвичайних ситуацій техногенного, екологічного, природного характеру.

Одним із елементів забруднення біосфери є відходи промислових підприємств, автотранспорту і тваринницьких ферм та комплексів.

Промисловість забруднює атмосферу викидами шкідливих відходів, газів і індустріального пилу, ускладнюючі екологічне становище прилеглих до підприємств населених пунктів. Основними джерелами забруднення повітря, ґрунту, води найчастіше є стічні води молокопереробних підприємств. Не зважаючи на постійні приписи санепідслужби про обов'язкове знезаражування стічних вод від молокопереробних підприємств, ситуація з року в рік не змінюється, проблемою по молокопереробних підприємствах залишається відсутність локальних очисних споруд.

Отже, цивільний захист - це система організаційних, інженернотехнічних, санітарно-гігієнічних, протиепідемічних та інших заходів, які здійснюються центральними і місцевими органами виконавчої влади, органами місцевого самоврядування, підпорядкованими їм силами і засобами, підприємствами, установами та організаціями незалежно від форми власності, добровільними рятувальними формуваннями, що забезпечують виконання цих заходів з метою запобігання та ліквідації надзвичайних



ситуацій, які загрожують життю та здоров'ю людей, завдають матеріальних збитків у мирний час і в особливий період [71].

Цивільний захист здійснюється з метою:

- ✓ реалізації державної політики, спрямованої на забезпечення безпеки та захисту населення і територій, матеріальних і культурних цінностей та довкілля від негативних наслідків надзвичайних ситуацій у мирний час та в особливий період;

- ✓ подолання наслідків надзвичайних ситуацій, у тому числі наслідків надзвичайних ситуацій на територіях іноземних держав відповідно до міжнародних договорів України, згода на обов'язковість яких надана Верховною Радою України [71].

Основними завданнями дослідження з питань цивільного захисту є:

- ✓ збір та аналітичне опрацювання інформації щодо планування цивільного захисту на об'єкті практики;

- ✓ оцінка соціально-економічних наслідків можливої надзвичайної ситуації;

- ✓ розробка та обґрунтування пропозицій з удосконалення організації та планування заходів цивільного захисту з метою запобігання надзвичайних ситуацій;

- ✓ здійснення нагляду і контролю у сфері цивільного захисту;

- ✓ розробка і виконання законодавчих та інших нормативно-правових актів, дотримання норм і стандартів у сфері цивільного захисту;

- ✓ розробка і здійснення запобіжних заходів у сфері цивільного захисту;

- ✓ створення, збереження і раціональне використання матеріальних ресурсів, необхідних для запобігання надзвичайним ситуаціям;

- ✓ розроблення і виконання науково-технічних програм, спрямованих на запобігання надзвичайним ситуаціям;

- ✓ оперативне повідомлення населення про виникнення або загрозу виникнення надзвичайної ситуації, своєчасне та достовірне інформування

про обставини, що склалися, та заходи, що вживаються для запобігання надзвичайним ситуаціям та подолання їх наслідків;

- ✓ організація захисту населення і території від надзвичайних ситуацій, надання невідкладної психологічної, медичної та іншої допомоги потерпілим;

- ✓ проведення невідкладних робіт із ліквідації наслідків надзвичайних ситуацій та організація життєзабезпечення постраждалого населення;

- ✓ забезпечення постійної готовності сил і засобів цивільного захисту до запобігання надзвичайним ситуаціям та ліквідації їх наслідків;

- ✓ надання з використанням сил цивільного захисту оперативної допомоги населенню в разі виникнення несприятливих побутових або нестандартних ситуацій;

- ✓ навчання населення способам захисту в разі виникнення надзвичайних, несприятливих побутових або нестандартних ситуацій та організація тренувань [71, 72].

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Accolas, J.-P., Melcion, D., & Vassal, L. (1978). Study of the surface microflora of Gruyere and Beaufort cheeses. Proceedings of the 20th international dairy congress (pp. 762).
2. Alekseeva, M. A., Anischenko, I. P., Schlegel, A. H., Ott, E. F., & Vorobjeva, L. I. (1983). Improving criteria of selection of propionibacteria for cheesemaking. In A. H. Shlegel (Ed.), *Nauchno-Technichesky Progress* (pp. 117–129).
3. Barnaul, Altaiskii TSNTI. Ard. o, Y., & J onsson, L. (1994). Chromatographic profiling of aminopeptidolytic activities in lactobacilli as a tool for strain identification. *Journal of Dairy Research*, 61, 573–579.
4. Baer, A. (1995). Influence of casein proteolysis by starter bacteria, rennet and plasmin on the growth of propionibacteria in Swiss-type cheese. *Lait*, 75, 391–400.
5. Bartschi, C., Berthier, J., & Valla, G. (1994). Inventaire et !evolution des flores fongiques de surface du reblochon de Savoie. *Lait*, 74, 105–114.
6. Berger, C., Khan, J. A., Molimard, P., Martin, N., & Spinnler, H. E. (1999). Production of sulfur flavors by ten strains of *Geotrichum candidum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 5510–5514.
7. Beuchat, L. R., & Golden, D. A. (1989). Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technology*, 43(1), 134–142.
8. Beuvier, E., Berthaud, K., Cegarra, S., Dasen, A., Pochet, S., Buchin, S., & Duboz, G. (1997). Ripening and quality of Swiss-type cheese made from raw, pasteurized or microfiltered milk. *International Dairy Journal*, 7, 311–323.
9. Bie, R., & Sjostrom, G. (1975). Autolytic properties of some lactic acid bacteria used in cheese production. Part II: Experiments with fluid substrates and cheese. *Milchwissenschaft*, 30, 739–747.
10. Botazzi, V., Battistotti, B., Vescovo, M., Rebecchi, A., & Bianchi, F. (1992). Development and lysis of homofermentative thermophilic lactobacilli

microcolonies in grana cheese. *Annali di Microbiologia ed Enzimologia*, 42, 227–247.

11. Boyce, J. M., Opal, S. M., Potter-Bynoe, G., LaForge, R. G., Zervos, M. J., Furtado, G., Victor, G., & Medeiros, A. A. (1992). Emergence and nosocomial transmission of ampicillin-resistant enterococci. *Antimicrobial Agents in Chemotherapy*, 36, 1032–1039.

12. Brennan, N. (2000). Studies on the microflora of a smear-ripened cheese. Ph.D. Thesis, National University of Ireland.

13. Broome, M. C., Krause, D. A., & Hickey, M. W. (1990). The isolation and characterization of lactobacilli from Cheddar cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 45, 60–66.

14. Brown, A. D. (1976). Microbial water stress. *Bacteriology Reviews*, 40, 803–846.

15. Brown, H. M., & Emberger, O. (1980). Oxidation–reduction potential. In *Microbial ecology of foods: Factors affecting life and death of microorganisms*, Vol. 1 (pp. 112–125). New York: ICMSF Academic Press Inc.

16. Cappa, F., Bottazzi, V., Bosi, F., & Parisi, M. G. (1997). Characterization of propionibacteria in Grana cheese. *Scienza e Tecnica Lattiero-Caesaria*, 47, 405–414.

17. Centeno, J. A., Cepeda, A., & Rodriguez-Otero, J. L. (1996). Lactic acid bacteria isolated from Arzua cows' milk cheese. *International Dairy Journal*, 6, 65–78.

18. Cocconcelli, P. S. (1996a). Fontina cheese. In T. M. Cogan, & M. C. Rea (Eds.), *Artisanal European cheeses* (pp. 41–44). Brussels: European Commission, DG XII.

19. Cocconcelli, P. S. (1996b). Toma cheese. In T. M. Cogan, & M. C. Rea (Eds.), *Artisanal European Cheeses* (pp. 45–48). Brussels: European Commission, DG XII.

20. Cogan, T. M. (2000). Cheese microbiology. In P. F. Fox, T. Guinee, T. M. Cogan, & P. L. H. McSweeney (Eds.), *Fundamentals of cheese science*. Gaithersburg: Aspen Publishers.
21. Cogan, T. M., Barbosa, M., Beuvier, E., Bianchi-Salvadori, B., Cocconcelli, P. S., Fernandes, I., Gomez, J., Gomez, R., Kalantzopoulos, G., Ledda, A., Medina, M., Rea, M. C., &
22. Rodriguez, E. (1997). Characterisation of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *Journal of Dairy Research*, 64, 409–421.
23. Cogan, T. M., & Hill, C. (1993). Cheese starter cultures. In P. F. Fox (Ed.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*, Vol. 1 (pp. 193–255). London: Elsevier Applied Science.
24. Collins, M. D. (1987). Transfer of *Brevibacterium ammoniagenes* (Cooke and Keith) to the genus *Corynebacterium* as *Corynebacterium ammoniagenes* comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 37, 442–443.
25. Collins, M. D., Farrow, J. A. E., Goodfellow, M., & Minnikin, D. E. (1983). *Brevibacterium casei* sp. Nov. and *Brevibacterium epidermidis* sp. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 4, 388–395.
26. Collins, M. D., Smida, J., & Stackebrandt, E. (1989). Phylogenetic evidence for the transfer of *Caseobacter polymorphus* (Crombach) to the genus *Corynebacterium*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 39, 7–9.
27. Coppola, R., Nanni, M., Iorizzo, M., Sorrentino, A., Sorrentino, E., & Grazia, L. (1997). Survey of lactic acid bacteria isolated during the advanced stages of the ripening of Parmigiano Reggiano cheese. *Journal of Dairy Research*, 64, 305–310.
28. Crow, V. L., Coolbear, T., Gopal, P. K., Martley, F. G., McKay, L. L., & Riepe, H. (1995a). The role of autolysis of lactic acid bacteria in the ripening of cheese. *International Dairy Journal*, 5, 855–875.
29. Crow, V. L., Martley, F. G., Coolbear, T., & Roundhill, S. J. (1995b). The influence of phage-assisted lysis of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ML8 on Cheddar cheese ripening. *International Dairy Journal*, 5, 451–472.

30. Cuesta, P., Fernandez-García, E., Gonzalez de Llano, D., Montila, A., & Rodriguez, A. (1996). Evolution of the microbiological and biochemical characteristics of Afuega'l Pitu cheese during ripening. *Journal of Dairy Science*, 79, 1693–1698.
31. Daly, C. (1983). The use of mesophilic cultures in the dairy industry. *Antonie van Leeuwenhoek*, 49, 297–312.
32. Кухтин, М. Д. (2010). Концепція розробки та застосування нормативів для виробництва сирого молока гатунку „екстра” за вмістом мікроорганізмів. *Ветеринарна медицина України*, 10, 42-43.
33. Decallonne, J., Delmee, M., Wauthoz, P., El Lioui, M., & Lambert, R. (1991). A rapid procedure for the identification of lactic acid bacteria based on the gas chromatographic analysis of the cellular fatty acids. *Journal of Food Protection*, 54, 217–224.
34. Кухтин МД. Мікробіологічні нормативи ефективності технологій одержання молока сирого екстра-гатунку. *Ветеринарна медицина України*. 2008;2:45-6.
35. Demarigny, Y., Beuvier, E., Dasen, A., & Duboz, G. (1996). Influence of raw milk microflora on the characteristics of Swiss-type cheeses. I. Evolution of microflora during ripening and characterisation of facultatively heterofermentative lactobacilli. *Lait*, 76, 371–387.
36. Kukhtyn, M., Vichko, O., Horyuk, Y., Shved, O., & Novikov, V. (2018). Some probiotic characteristics of a fermented milk product based on microbiota of "Tibetan kefir grains" cultivated in Ukrainian household. *Journal of Food Science and Technology (Mysore)*, 55(1), 252-257.
37. Devoyod, J. J., Desmazeaud, M., Assenat, L., & Auclair, J. (1972). Les associations microbiennes dans le fromage de Roquefort. IV. Action inhibitrice des microcoques caséolytiques sur l'ouverture du caillé. *Lait*, 52, 297–310.
38. Dicks, L. M. T., & van Vuuren, H. J. J. (1987). Relatedness of heterofermentative *Lactobacillus* species revealed by numerical analysis of total

soluble cell protein patterns. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 37, 437–440.

39. Kukhtyn, M. D., Kovalenko, V. L., Horyuk Yu, V., Horyuk, V. V., & Stravsky Ya, S. BACTERIAL BIOFILMS FORMATION OF CATTLE MASTITIS PATHOGENS. Dear colleagues!, 30.

40. Diggin, M. B., Waldron, D. S., McGoldrick, M. A., Cogan, T. M., & Fox, P. F. (1999). Growth substrates for mesophilic non-starter lactic acid bacteria in Cheddar cheese. *Irish Journal of Agriculture and Food Research*, 38, 183.

41. Писків, С. І., & Кухтин, М. Д. (2018). Моніторинг вмісту нітратів у молоці. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені СЗ Гжицького. Серія: Харчові технології, (20, № 85), 41-45.

42. Касянчук В, Бергілевич О, Крижанівський Я, Кухтин М. Організація ветеринарно-санітарного контролю виробництва молока коров'ячого на фермі відповідно до вимог СОТ. *Ветеринарна медицина України*. 2006;7:38-40.

43. Kovalenko, V. L., Ponomarenko, G. V., Kukhtyn, M. D., Paliy, A. P., Bodnar, O. O., Rebenko, H. I., ... & Palii, A. P. (2020). Evaluation of acute toxicity of the. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(4), 273-278.

44. Eliskases-Lechner, F., & Ginzinger, W. (1995). The yeast flora of surface-ripened cheeses. *Milchwissenschaft*, 50, 458–462.

45. Kukhtyn, M. D., Kovalenko, V. L., Pokotylo, O. S., Horyuk, Y. V., Horyuk, V. V., & Pokotylo, O. O. (2017). STAPHYLOCOCCAL CONTAMINATION OF RAW MILK AND HANDMADE DAIRY PRODUCTS, WHICH ARE REALIZED AT THE MARKETS OF UKRAINE. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 3(1), 12-16.

46. El Soda, M., Desmazeaud, M. J., Aboudonia, S., & Kamal, N. (1981). Acceleration of cheese ripening by the addition of whole cells or cell free extracts from *Lactobacillus casei* to the cheese curd. *Milchwissenschaft*, 36, 140–142.

47. Kukhtyn, M., Kravcheniuk, K., Beyko, L., Horiuk, Y., Skliar, O., & Kernychnyi, S. (2019). Modeling the process of microbial biofilm formation on

stainless steel with a different surface roughness. *Восточно-Европейский журнал передовых технологий*, (2 (11)), 14-21.

48. Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H. (2000). *Fundamentals of cheese science*. Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc.

49. Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., & Lynch, C. M. (1998). Significance of non-starter lactic acid bacteria in Cheddar cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 53, 83–89.

50. Бергілевич ОМ, Касянчук ВВ, Власенко ІГ, Кухтін МД. *Мікробіологія молока і молочних продуктів*. Суми: Університетська книга. 2010.

51. Girolami, R. L., & Knight, S. G. (1955). Fatty acid oxidation by *Penicillium Roqueforti*. *Journal of Applied Microbiology*, 3, 264–267.

52. Gripon, J.-C. (1993). Mould ripened cheeses. In P. F. Fox (Ed.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*, Vol. 2 (pp. 111–136). London: Chapman & Hall.

53. Horiuk, Y. V., Havrylianchyk, R. Y., Horiuk, V. V., Kukhtyn, M. D., Stravskyy, Y. S., & Fotina, H. A. (2018). Comparison of the minimum bactericidal concentration of antibiotics on planktonic and biofilm forms of *Staphylococcus aureus*: Mastitis causative agents. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 9(6), 616-622.

54. Irlinger, F., & Bergere, J.-L. (1999). Use of conventional biochemical tests and analyses of ribotype patterns for classification of micrococci isolated from dairy products. *Journal of Dairy Research*, 66, 91–103.

55. Kampf, P., & Kroppenstedt, R. M. (1996). Numerical analysis of fatty acid patterns of coryneform bacteria and related taxa. *Canadian Journal of Microbiology*, 42, 989–1005.

56. Kanauchi, T., Yoshioka, Y., & Hammamoto, M. (1961). Microbiological studies on blue veined cheese. I. Microflora of blue veined cheese in ripening period. *Dairy Science Abstracts*, 23, 3526.



57. Kukhtyn, M., Vichko, O., Berhilevych, O., Horyuk, Y., & Horyuk, V. (2016). Main microbiological and biological properties of microbial associations of "Lactomyces tibeticus". *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(6), 1266-1272.

58. Lortal, S., Valence, F., Bizet, C., & Maubois, J.-L. (1997). Electrophoretic pattern of peptidoglycan hydrolases, a new tool for bacterial species identification: Application to 10 *Lactobacillus* species. *Research in Microbiology*, 148, 461–474.

59. Кухтин, М. Д. (2008). Динаміка мікробіологічного та біохімічного процесу в молоці сирому при зберіганні за різних температур. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені СЗ Гжицького*, 10(3-3 (38)).

60. McSweeney, P. L. H., Walsh, E. M., Fox, P. F., Cogan, T. M., Drinan, F. D., & Castelo-Gonzalez, M. (1994). A procedure for the manufacture of Cheddar cheese under controlled bacteriological conditions and the effect of adjunct lactobacilli on cheese quality. *Irish Journal of Agriculture and Food Research*, 33, 183–192.

61. Piveteau, P. G., Condon, S., & Cogan, T. M. (1995). Interactions between lactic and propionic acid bacteria. *Lait*, 75, 331–343.

62. Roostita, R., & Fleet, G. H. (1996). The occurrence and growth of yeast in Camembert and blue-veined cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 28, 393–404.

63. Tornadijo, M. E., Fresno, J. M., Bernardo, A., Martin Sarmiento, R., & Carballo, J. (1995). Microbiological changes throughout the manufacturing and ripening of a Spanish goats raw milk cheese (Armada variety). *Lait*, 75, 551–570.

64. Касянчук, В. В., Крижанівський, Я. Й., Даниленко, І. П., & Полтавчанко, Т. В. (2005). Вдосконалення ветеринарно-санітарного контролю виробництва молока на фермі–основний важіль у забезпеченні населення високоякісною продукцією. *Мат*, 1, 105-108.

65. Vorobjeva, L. I. (1999). Economic and medical applications. In L. I. Vorobjeva (Ed.), *Propionibacteria* (pp. 209–243). Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

66. Бергілевич ОМ, Касянчук ВВ, Власенко ІГ, Кухтін МД. Мікробіологія молока і молочних продуктів. Суми: Університетська книга. 2010. – 205 с

67. ДСТУ 7357:2013. Молоко та молочні продукти. Методи мікробіологічного контролювання. Держспоживстандарт України, 2014, 34 с.

68. Кравців Р.Й., Цісарик О.Й., Параняк Р.П., Дроник Г.В., Островський Я.Ю. Біохімія молока. Практикум – Львів: ТеРус, 2000. 150 с.

69. Винокурова Л.Е., Васильчук М.В., Гаман М.В. Основи охорони праці: Підручник. К., 2001. 190 с.

70. Сапронов Ю. Г. Безпека життєдіяльності: М. Видавничий центр «Академія», 2006. 118 с.

71. Безпека життєдіяльності. Є.П. Желібо, К.: Каравела, 2005. 344 с.

72. Депутат О.П., Коваленко І.В., Мужик І.С. Цивільна оборона Навчальний посібник. Львів, Афіша, 2001. 336с.

## ДОДАТКИ

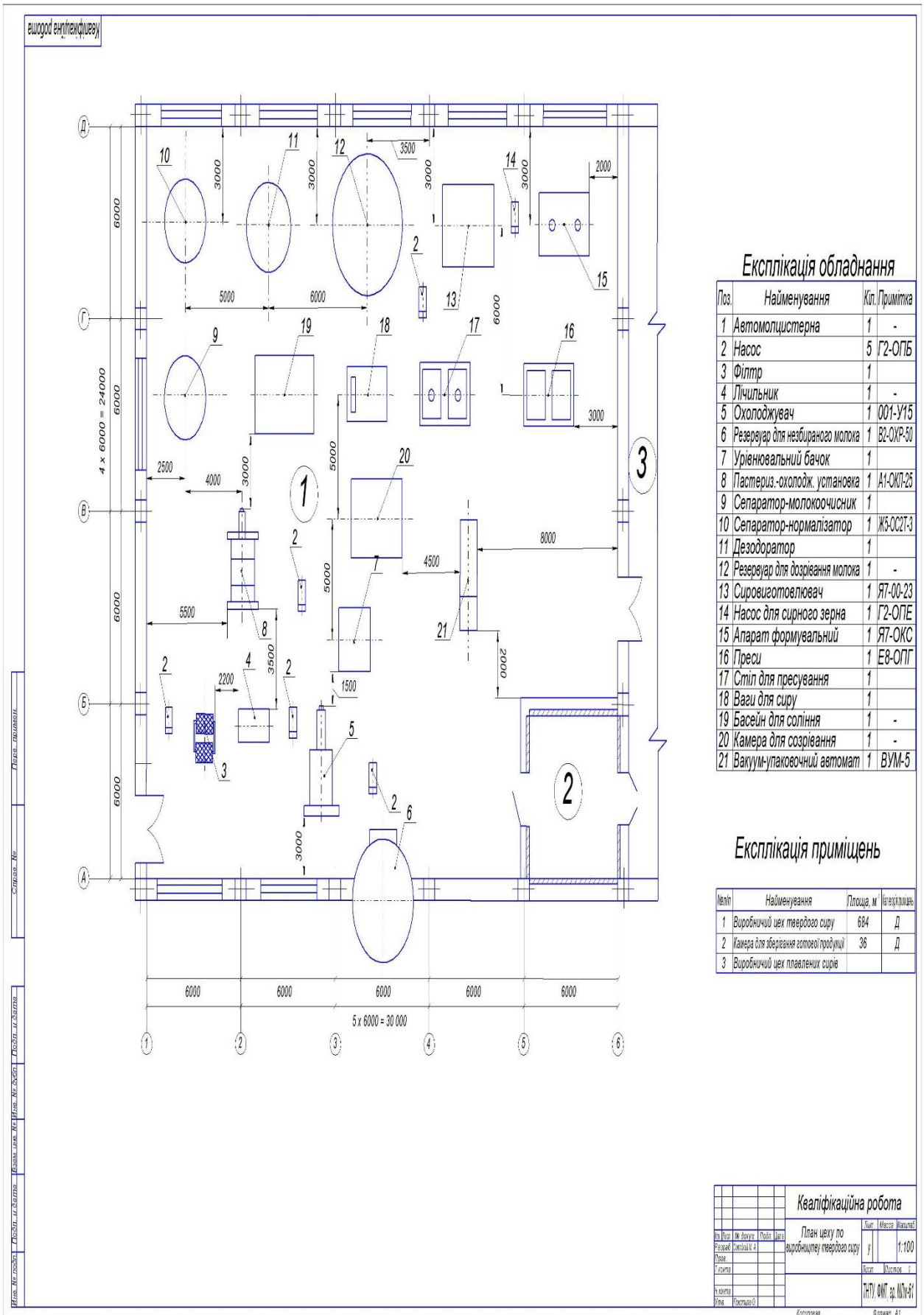


Рисунок Д.1. – План цеху з виробництва сиру

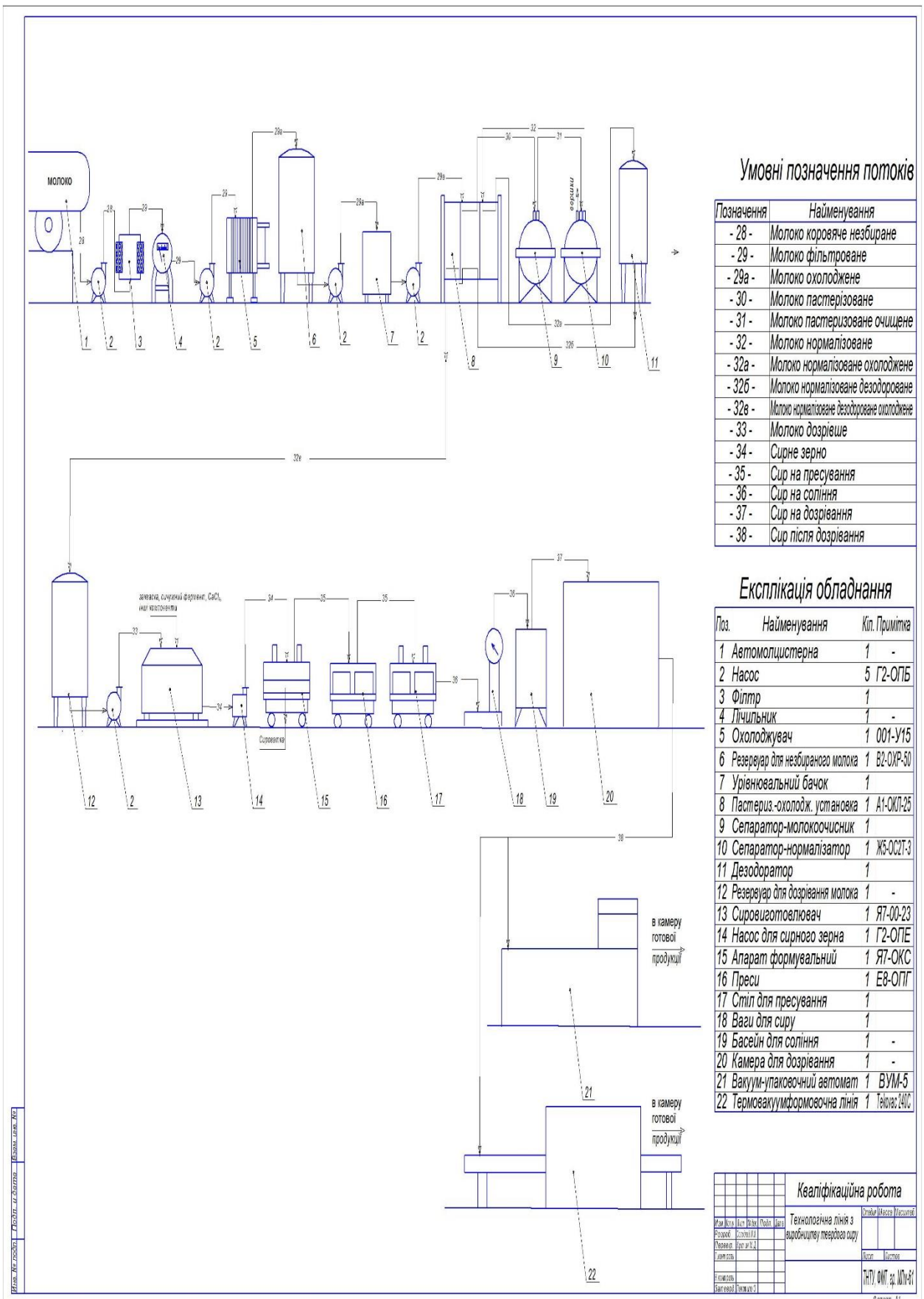


Рисунок Д.2. – Апаратурно-технологічна схема виробництва сиру

