

Міністерство освіти і науки України  
Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя  
(повне найменування вищого навчального закладу)

**Інженерії машин, споруд і технологій**  
(назва факультету)

**Харчової біотехнології і хімії**  
(повна назва кафедри)

## КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на здобуття освітнього ступеня

**Магістр**

(назва освітнього ступеня)

на тему: **Дослідження змін у молоці питному за впливу різної  
теплової обробки з проектуванням цеху виробництва  
молока питного з какао**

Виконав: студент \_\_\_\_\_ 2 курсу, групи МЛд-2  
спеціальності \_\_\_\_\_

181- Харчові технології

(шифр і назва спеціальності)

Базар О.С.

(підпис)

(прізвище та ініціали)

Керівник

(підпис)

Кухтин М. Д.

(прізвище та ініціали)

Нормоконтроль

(підпис)

(прізвище та ініціали)

Завідувач кафедри

(підпис)

Покотило О.С.

(прізвище та ініціали)

Рецензент

(підпис)

(прізвище та ініціали)

м. Тернопіль  
2022

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

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)  
« » 2022 р.

**ЗАВДАННЯ  
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ**

на здобуття освітнього ступеня Магістр  
(назва освітнього ступеня)  
за спеціальністю 181 – Харчові технології  
(шифр і назва спеціальності)  
студенту Базар Оксана Станіславівна  
(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Дослідження змін у молоці питному за впливу різної  
теплової обробки з проектуванням цеху виробництва  
молока питного з какао

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

Затверджені наказом ректора від « 18 » 10 2022 року № 4/7 – 844

2. Термін подання студентом завершеної роботи грудень 2022 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) проаналізувати закономірності формування мікробіоти пастеризованого молока питного;  
2) визначити показники кількісного вмісту мікроорганізмів у молоці-сировині до теплової  
обробки;

3) виявити зміни вмісту мікробіоти пастеризованих продуктів за використання режимів  
пастеризації;

4) виявити динаміку мікробіоти і титрованої кислотності у питному молоці при  
зберіганні за умови різного початкового вмісту бактерій;

5) розробити технологію молока питного з какао.

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

## 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 роботи	Примітка
1.	Аналітичний огляд та патентний пошук інформації відповідно до теми магістерської роботи	24.01.22 р. – 23.05.22 р.	
2.	Складання схеми досліджень	20.06.22 р. – 27.06.22 р.	
3.	Опрацювання методики досліджень	30.06.22 р. – 08.07.22 р.	
4.	Виконання експериментальних досліджень (Частина I)	06.07.22 р. – 25.07.22 р.	
5.	Завершення експериментальних досліджень (Частина II)	29.08.22 р. – 19.09.22 р.	
6.	Збір інформації до виконання розділу та «Безпека в надзвичайних ситуаціях»	20.09.22 р. – 03.10.22 р.	
7.	Закінчення написання розділів	05.10.22 р. – 28.11.22 р.	
8.	Подання магістерської роботи до захисту	01.12.22 р.	

Студент

\_\_\_\_\_ (підпис)

**Базар О. С.**

\_\_\_\_\_ (прізвище та ініціали)

Керівник роботи

\_\_\_\_\_ (підпис)

**Кухтин М. Д.**

\_\_\_\_\_ (прізвище та ініціали)

## ЗМІСТ

	Реферат	6
	Вступ	7
1	Огляд літератури	10
1.1	Загальна характеристика мікробіоти молока-сировини	10
1.2	Методи визначення мікробного складу молока	11
1.3	Джерела мікроорганізмів молока	13
1.4	Мікрофлора молока-сировини коров'ячого	15
1.5	Технологічно-корисні бактерії сирого молока	17
1.6	Мікрофлора молока-сировини, яке перебуває в охолодженому стані	24
1.7	Вплив пастеризації на мікрофлору молока-сировини	26
1.8	Підсумки з огляду літератури	28
2	Матеріали і методи досліджень	30
3	Результати дослідження та їх обговорення	33
3.1	Закономірності формування мікробіоти пастеризованого молока питного	33
3.2	Показники кількісного вмісту мікроорганізмів у молоці-сировині до теплової обробки	35
3.3	Зміни вмісту мікробіоти пастеризованих продуктів за використання режимів пастеризації	39
3.4	Динаміка мікробіоти і титрованої кислотності у питному молоці при зберіганні за умови різного початкового вмісту бактерій	48
3.5	Виробництво молока питного з какао з масовою часткою жиру 1,0 %	52
	Висновки і пропозиції виробництву	56
4	Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях	58
4.1	Санітарно-гігієнічні вимоги до умов праці	58

4.2	Захист продуктів харчування від радіоактивного, хімічного і бактеріологічного (біологічного) забруднення	60
	Список використаних джерел	63
	Додатки	74

## РЕФЕРАТ

Магістерська робота: 80 с., 11 рис., 3 табл., 92 джерел.

МОЛОЧНА СИРОВИНА, ПАСТЕРИЗАЦІЯ, МОЛОКО ПИТНЕ,  
МІКРОФЛОРА МОЛОКА.

Об'єкт дослідження: молочна сировина, мікробіота молока, ефективність пастеризації.

Метою роботи було визначити зміни мікробіоти молока за двох режимів пастеризації та використання молока з низьким і великим вмістом мікроорганізмів.

Методи дослідження: мікробіологічні, фізико-хімічні, статистичні.

У роботі висвітлено питання зміни мікробіоти молочної сировини за двох режимів пастеризації та використання молока з низьким і великим вмістом мікроорганізмів.

Встановлено, що температурний режим теплової обробки ( $t = 72\text{ }^{\circ}\text{C}$  експозиція 20 с) сприяв зменшенню мезофільних та психротрофних бактерій на 93,4 % за умови використання молока екстра гатунку та на 91,5 % за умови першого гатунку. За температурного режиму обробки ( $t = 91\text{ }^{\circ}\text{C}$  експозиція 20 с) ефективність пастеризації становила 98,1 % (при використанні молока екстра гатунку), а при використанні молока нижчої мікробіологічної якості, вона була 96,8 %. Інтенсивність відмирання терmostійкої мікрофлори молока за режиму  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  з витримкою 20 с становила всього 15,2 % за використання молока сирого екстра гатунку та 4,2 % (першого). Пастеризація за режиму температури  $91\text{ }^{\circ}\text{C}$  протягом 20 с значно сильніше впливала на дану мікрофлору, оскільки ефективність її становила 52,9 % та 49,2 %. Тобто ефективність режиму пастеризації була в 3,5 та 11,7 разів, відповідно сильніша, порівнюючи з режимом за температури  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Навіть за щадячого режиму пастеризації  $+72\text{ }^{\circ}\text{C}$  протягом 20 с молоко, яке містить залишкову мезофільну мікробіоту  $5,8 \pm 0,3 \times 10^3$  КУО/мл можна зберігати і реалізовувати за температури встановленої стандартом ( $+4 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) протягом 7 діб.

## Вступ

**Актуальність теми.** Пастеризація молока визначається, як нагрівання кожної частинки молока до стандартизованої температури протягом певного періоду часу без можливості повторного забруднення даного молока або молочного продукту під час процесу розливання в упаковку. Пастеризація молока використовується з двох різних причин: 1) щоб зробити молоко та молочні продукти безпечними для споживання людиною шляхом зменшення кількості життєздатних бактерій, які можуть бути шкідливими для здоров'я, та 2) для покращення терміну зберігання молока шляхом зменшення кількості випадків мікробіологічного псування.

Пастеризація молочної сировини є обов'язковою умовою під час виготовлення молочних продуктів у багатьох розвинених країнах. Тому, що молочна сировина і готові продукти є чудовим живильним середовищем для розвитку різноманітних мікроорганізмів, як сапрофітних так і хвороботворних, небезпечних для людини. У світі спалахи аліментарних захворювань спричинені через споживання молока чи молочних продуктів посідають одні з перших місць. Захворювання, що передаються через молоко, включають кампілобактеріоз, сальмонельоз, ієрсиніоз, лістеріоз, туберкульоз, бруцельоз, стрептококові та стафілококові інфекції, та ін. Тому на молокопереробних підприємствах застосовують різні режими пастеризації. Втім, вибір того чи іншого режиму теплової обробки, перш за все, має базуватися на ґрунтовному експериментальному матеріалі, який би показував надійність пастеризації (безпечність молока), водночас максимально сприяв збереженню його корисних властивостей, на яке багате даний продукт. Враховуючи те, що в стандарті на молочну сировину існує три гатунки молока-сировини з різним бактеріальним обсягням, вибір ефективного режиму для кожного окремо взятого гатунку є актуальним та доцільним. Оскільки виробництво молочних продуктів має спиратися на збереженні природних властивостей молока-сировини.

**Мета і завдання досліджень.** Мета роботи – визначити зміни мікробіоти молока за двох режимів пастеризації та використання молока з низьким і великим вмістом мікроорганізмів.

*Для виконання мети були поставлені наступні завдання:*

- 1) проаналізувати закономірності формування мікробіоти пастеризованого молока питного;
- 2) визначити показники кількісного вмісту мікроорганізмів у молоці-сировині до теплової обробки;
- 3) виявити зміни вмісту мікробіоти пастеризованих продуктів за використання режимів пастеризації;
- 4) виявити динаміку мікробіоти і титрованої кислотності у питному молоці при зберіганні за умови різного початкового вмісту бактерій;
- 5) розробити технологію молока питного з какао.

**Об'єкт дослідження** – молочна сировина, мікробіота молока, ефективність пастеризації.

**Предмет дослідження** – зміни мікробіоти молока за двох режимів пастеризації та різного мікробного обсіяння.

**Методи досліджень:** мікробіологічні, фізико-хімічні, статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Для ефективної пастеризації молока (вище 90 %) необхідно, використовувати молочну сировину екстра гатунку або високі температурні режими. Встановлено, що інтенсивність відмирання термостійкої мікрофлори молока за режиму 72 °С з витримкою 20 с становила 15,2 % за використання молока сирого екстра гатунку та 4,2 % (першого). Пастеризація за режиму температури 91 °С протягом 20 с знищувала дану мікрофлору на 52,9 % та 49,2 % відповідно.

**Практичне значення одержаних результатів.** У технології молока питного використовувати режим пастеризації 72 °С з витримкою 20 с для молочної сировини екстра гатунку і режим – 91 °С з витримкою 20 с для сировини першого гатунку.



**Особистий внесок здобувача.** Магістрантка самостійно здійснила аналіз літературних публікацій за темою, опрацювала методики, приготувала реактиви, провела усі мікробіологічні та статистичні дослідження, за допомоги наукового керівника сформувала висновки та пропозиції.

**Апробація результатів.** Виступ на VI міжнародній науково-технічній конференції «Стан і перспективи харчової науки та промисловості» 22-23 вересня 2022 року / Тернопіль: Тернопільський національний технічний університет ім. І.Пулюя (м. Тернопіль, 22-23 вересня 2022 р.). (Додаток А).

**Публікації.** За матеріалами кваліфікаційної роботи опубліковано одну наукову працю у тезах: Базар О., Кухтин М. Ефективність пастеризації молока-сировини з різним мікробним забрудненням: Матеріали VI міжнародної науково-технічної конференції «Стан і перспективи харчової науки та промисловості» / Тернопіль: Тернопільський національний технічний університет ім. І.Пулюя (м. Тернопіль, 22-23 вересня 2022 р.), 2022, С. 33. (Додаток А).

**Структура і обсяг роботи.** Магістерська складається зі вступної частини, огляду літератури, експериментальної частини, висновків та пропозицій виробництву, частини охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях, списку літератури та додатків. Робота викладена на 80 сторінках і має 3 таблиці, 11 рисунків. Список літератури має 92 найменувань.

# РОЗДІЛ 1

## ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Загальна характеристика мікробіоти молока-сировини

Молоко є дуже поживним продуктом харчування, який можна отримати з різних тваринних джерел, таких як корови, кози, вівці та буйволи, а також люди для споживання людиною. Проте високий вміст поживних речовин у цьому молоці, який включає білки, жири, вуглеводи, вітаміни, мінерали та незамінні амінокислоти, і все це при майже нейтральному рН і високій активності води забезпечує ідеальне середовище для росту багатьох мікроорганізмів [25]. Деякі з цих поживних речовин безпосередньо доступні для всіх мікроорганізмів, тоді як інші надаються після метаболізму основних компонентів конкретними популяціями для вивільнення компонентів і метаболітів, які використовуються іншими [26]. Загально визнано, що молочнокислі бактерії (LAB) – це група бактерій, які зброджують лактозу до лактату, є домінуючою популяцією в коров'ячому, козячому, овечому та буйволячому молоці до пастеризації. Найпоширенішими родами LAB у молоці є *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* і *Enterococcus* [27]. Психротрофні популяції, які особливо створюються під час холодного зберігання, також є основним компонентом і часто включають *Pseudomonas* і *Acinetobacter spp* [23]. Інші штами не молочнокислих бактерій, багатьох родів також зустрічаються в молоці, а також різні дріжджі та цвіль [24].

Специфічний склад мікробіоти молока безпосередньо впливає на подальший розвиток молочних продуктів. Мікроорганізми можуть спричиняти бродіння молока шляхом утворення лактату та мати різні впливи на сенсорні, консистенційні, смакові та органолептичні властивості отриманих продуктів [28, 29]. Мікроорганізми також можуть негативно впливати на якість і термін зберігання молока; наприклад, психротолерантні бактерії можуть проліферувати під час охолодження та через виробництво

позаклітинних ліпаз і протеаз призводити до псування [30, 31]. Мікробний склад молока також може мати наслідки для здоров'я, оскільки споживання сирого молока, зараженого хвороботворними мікроорганізмами, у деяких випадках може призвести до важких захворювань [32]. Навпаки, стверджується, що інші мікроорганізми сирого молока можуть сприяти здоров'ю, сприяючи травленню або знижуючи частоту алергії, включаючи астму та atopічні захворювання, в осіб, які споживають сире молоко в перші роки життя [33, 34].

## 1.2. Методи визначення мікробного складу молока

Багато мікробних спільнот є складними; тобто вони складаються з багатьох різних таксономічних груп мікроорганізмів. Сире молоко є прикладом середовища, яке містить різноманітну та складну мікробну популяцію [35]. Більшість наших знань щодо ідентичності мікроорганізмів, присутніх у сирому молоці та отриманих молочних продуктах, були отримані шляхом вирощування або «культивування» та подальшого аналізу цих мікроорганізмів. Остаточна ідентифікація цих культивованих мікроорганізмів включає фенотипічні та/або генотипічні методи. Фенотипові методи – це ті, які традиційно використовувалися і включають ріст мікроорганізмів у мікробіологічних середовищах (загальних або селективних), доповнених морфологічними, біохімічними чи фізіологічними характеристиками [22, 36]. Ці методи тестування все ще є стандартними в промислових умовах і зазвичай включають тести для визначення загальної кількості бактерій, що відображає загальну якість молока, або для виявлення специфічних патогенів чи інших мікроорганізмів, які вказують на те, чи відбулося зараження. До популяцій, які часто перевіряють, належать термодурні популяції (стійкі до пастеризації), сульфатвідновлюючі клостридії, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, коагулазопозитивні стафілококи, *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae*, коліформи та *Bacillus cereus* серед інших. Ці стандартні методи затверджені та

акредитовані національною та міжнародною радами з акредитації (наприклад [37]). Ці тести, як правило, значною мірою покладаються на використання мікробіологічних бульйонів або агарів, які вибірково підтримують ріст цільової мікробної популяції та часто включають подальший підтверджуючий біохімічний аналіз. Дані підходи, як правило, низькотехнологічні та недорогі, але є відносно трудомісткими та забирають багато часу, а в деяких випадках недостатня дискримінаційна потужність може стати проблемою. Зовсім недавно було докладено значних зусиль для розробки більш швидких, високопродуктивних тестів, які базуються на аналізі генотипу на основі ДНК. Такі технології, які зазвичай залежать, принаймні певною мірою, від застосування технології полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), можуть бути використані для підтвердження результатів, отриманих за допомогою традиційних тестів, але їх здатність служити альтернативою аналізу на основі культури. все більше цінується. Однією з ключових переваг заміни етапу культивування є той факт, що багато мікроорганізмів не схильні до ізоляції за допомогою звичайних методів культивування, що потенційно може призвести до значної недооцінки мікробних спільнот. Застосовуючи ці незалежні від культури методи, слід враховувати низку факторів. Вибір протоколу, який ефективно вилучає нуклеїнові кислоти з якомога більшої кількості присутніх мікроорганізмів, є критично важливим. Необхідно також розглянути можливість використання стратегій, таких як використання агентів, що зв'язують ДНК, або альтернативний фокус на РНК, щоб обмежити ризик хибнопозитивних результатів у результаті ампліфікації ДНК з мертвих клітин [36]. Нарешті, необхідно прийняти рішення щодо генів, на які потрібно націлити. Олігонуклеотиди або зонди можуть бути обрані для виявлення цільових специфічних генів або для надання огляду мікробіоти в певній ніші за допомогою нецільової специфічної ампліфікації висококонсервативних генів, таких як гени 16S або 23S рРНК. В останньому випадку ампліфіковані продукти можуть бути проаналізовані за допомогою таких методів, як денатуруючий градієнтний гель-електрофорез (DGGE), часовий

температурний градієнтний гель-електрофорез (TTGE) або поліморфізм одноланцюгової конформації (SSCP) [36], щоб підкреслити подібності чи відмінності в популяціях. Ці підходи можна використовувати разом із секвенуванням ДНК за Сенгером (перше покоління), щоб допомогти конкретно ідентифікувати присутні популяції. Зовсім недавно відбулася швидка еволюція технологій секвенування ДНК наступного покоління, які забезпечують мільйони зчитувань послідовностей за один цикл, таким чином дозволяючи набагато більш глибоку та точнішу оцінку мікробного різноманіття. Постійно зростаюча кількість і довжина зчитувань послідовностей, які забезпечуються цими технологіями, у поєднанні з доступністю баз даних і біоінформаційних інструментів були надзвичайно корисними щодо таксономічного розподілу присутніх мікроорганізмів [38]. Хоча на сьогоднішній день високопродуктивні підходи до секвенування широко не застосовувалися для оцінки мікробіоти молочних середовищ, нещодавно було опубліковано ряд публікацій, які свідчать про те, що ця ситуація різко зміниться в найближчі роки [39].

### **1.3. Джерела мікроорганізмів молока**

Вважається, що молоко в здорових клітинах вимені є стерильним [40], але після цього воно колонізується мікроорганізмами з різних джерел, включаючи верхівку дійки, доїльне обладнання, повітря, воду, корм, траву, ґрунт та інші середовища [35, 41].

Поверхня дійки великої рогатої худоби може містити велику різноманітність бактерій [42, 43]. В одному особливо детальному дослідженні культурально-залежні методи показали, що наявні бактерії можна класифікувати на рівні типу як *Firmicutes* (76%), *Actinobacteria* (4,9%), *Proteobacteria* (17,8%) і *Bacteroides* (1,3%). Коли цей підхід був доповнений підходом на основі секвенування бібліотеки клонів, деякі додаткові типи, тобто *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*, *Cyanobacteria*, *Chloroflexi* та

некласифіковані бактерії, були виявлені на низьких рівнях [42]. Примітно, що великий відсоток результатів цього та інших досліджень [44] відповідав ще неідентифікованим бактеріям. З тих, які вдалося ідентифікувати, багато відповідали технологічно важливим бактеріям, таким як *Lactobacillus*, *Leuconostoc* і *Enterococcus spp.* Бактерії, які можуть брати участь у формуванні смаку, аромату та кольору сиру, такі як коагулазонегативні стафілококи, а також *Arthrobacter*, *Brevibacterium* і *Corynebacterium spp.* також були виявлені. Однак деякі мікроорганізми, виявлені на поверхні дійки, наприклад, *Solobacterium*, *Clavibacter* і *Arcanobacterium spp.*, не були виявлені в молоці [42], ймовірно, це свідчить про недостатню конкурентоспроможність у молочному середовищі у разі перенесення. Було також зазначено, що склад мікробного співтовариства на поверхні дійки змінювався якісно та кількісно від однієї ферми до іншої [42]. Це можна пояснити багатьма різними факторами; наприклад, мікроорганізми, пов'язані з підстилковим матеріалом, можуть забруднити поверхню дійкок і таким чином потенційно потрапити в молоко [35]. Подібним чином доїльні апарати можуть містити резервуар мікроорганізмів, і тому, як не дивно, відмінності між машинами та пов'язаними з ними методами можуть впливати на мікробну популяцію зібраного молока [45]. Що стосується більш загальних факторів навколишнього середовища, було помічено, що мікроорганізми, присутні в коров'ячому молоці, залежать від того, чи годують тварин у приміщенні чи на відкритому повітрі, із збільшенням *Staphylococcus spp.* під час годівлі на відкритому повітрі [46], від місця розташування тварин [48] та на стадії лактації [47]. Було проведено інтенсивне дослідження, щоб пов'язати мікроорганізми, виявлені в молоці, з тим, де їх можна знайти на фермі [35]. Ці результати висвітлили 141 вид бактерій, що представляють 54 роди, з усієї ферми. У цих зразках молока було виявлено 25 родів, і багато з них, включаючи *Aerococcus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Ochrobactrum*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Staphylococcus*, *Sphingomonas*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Brachybacterium*, *Corynebacterium*,

*Kocuria*, *Microbacterium* і *Pseudoclavibacter*, також були виявлені в різних зонах ферми, включаючи поверхні дійок, доїльні зали, сіно, повітря та пил. Також присутні в молоці, але не виявлені у середовищі ферми, були технологічно відповідні бактерії, такі як *Lactococcus*, *Lactobacillus* і *Enterococcus*, а також *Leucobacter*, *Deinococcus* і *Paracoccus*. Подібним чином велика кількість інших таксонів була виявлена на фермі, але не в молоці [35]. Нарешті, слід зазначити, що впровадження суворих гігієнічних стандартів призводить до зменшення мікробного навантаження на молоко, включаючи зменшення популяцій, які мають технологічне значення, що, у свою чергу, може негативно вплинути на сир, виготовлений традиційними або кустарними методами [43, 49]. Дійсно, [50] нещодавно повідомили про зниження рівня технологічно значущих лактококів, присутніх у сирому молоці, на одну величину порівняно з тим, що було виявлено 15 років тому в сирому молоці, зібраному з того ж району. Здається, ці популяції особливо чутливі до еволюції сільськогосподарської практики, оскільки інші популяції, такі як популяції *Pseudomonas*, *Lactobacillus* і дріжджів, не відрізнялися між двома дослідженнями. Незважаючи на те, що важливо забезпечити підтримку високої якості молока, виробники сиру з сирого молока, виготовленого традиційним способом, повинні знати, що певні сільськогосподарські методи можуть негативно вплинути на характерні смаки та аромати внаслідок обмеження кількості специфічних мікроорганізмів та може знадобитися компенсація за допомогою введення початкових і додаткових штамів.

#### **1.4. Мікрофлора молока-сировини коров'ячого**

Коров'яче молоко виробляється в масових масштабах. У 2012 році в ЄС було вироблено цільного 139 мільйонів тонн коров'ячого молока, за якими йдуть Сполучені Штати з 90 мільйонами тонн [51]. Це молоко використовується багатьма способами, включаючи пряме споживання та виробництво молочних продуктів і сухого молока. Сире коров'яче молоко

може містити різноманітну популяцію бактерій, як було зазначено раніше [36]. Як правило, коров'яче молоко містить значну популяцію бактеріальних клітин, яка включає *Lactococcus* ( $8,2 \times 10^1$ – $1,4 \times 10^4$  КУО/мл), *Streptococcus* ( $1,41 \times 10^1$ – $1,5 \times 10^4$  КУО/мл), *Lactobacillus* ( $1,0 \times 10^2$ – $3,2 \times 10^4$  КУО/мл), *Leuconostoc* ( $9,8 \times 10^1$ – $2,5 \times 10^3$  КУО/мл) і *Enterococcus spp.* ( $2,57 \times 10^1$ – $1,58 \times 10^3$  КУО/мл). Ряд інших мікроорганізмів може бути присутнім у значних пропорціях. До них відносяться психротрофи, такі як *Pseudomonas*, *Acinetobacter* і *Aeromonas spp.*, які процвітають під час холодного зберігання [52]. Однак, незважаючи на те, що бактеріальний склад коров'ячого молока досить довго вивчався, нові розробки щодо технологій секвенування ДНК підкреслили, що різноманітність цих бактерій є більшою, ніж вважалося спочатку. Дійсно, нещодавнє дослідження застосувало високопродуктивне секвенування ДНК для вивчення бактеріальної популяції сирого коров'ячого молока, яке було використано для виробництва сиру [39]. Було виявлено 256 видів бактерій, з яких *Streptococcus thermophilus* і *Lactococcus lactis* переважали в молоці, що становило 43,7% і 19% зчитувань відповідно. Також було виявлено ряд інших мікроорганізмів, які раніше асоціювалися з сирим молоком, включаючи *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Pseudoalteromonas*, *Pseudomonas* і *Staphylococcus*, які становили від 1,3% до 3,7% від загальної кількості. Також було виділено велику субпопуляцію таксонів, кожна з яких відповідала <1 % від загальної кількості читань [39]. Ми також нещодавно порівняли бактеріальну популяцію, присутню в коров'ячому молоці до та після пастеризації, використовуючи високопродуктивне секвенування, щоб виявити присутність раніше нерозпізнаної та різноманітної бактеріальної популяції в непастеризованому коров'ячому молоці. Хоча в молоці, отриманому від різних комерційних виробників по всій Ірландії, переважали *Lactococcus*, *Pseudomonas* і *Leuconostoc*, ми також виявили низку анаеробних таксонів, включаючи *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Prevotella* та *Catenibacterium*, які більш типово пов'язані з мікробіотою кишечника, і можуть потрапляти в



молоко через забруднення фекаліями. Наші аналізи показують, що бактеріальна популяція пастеризованого молока є більш різноманітною, ніж вважалося раніше, але що нетермотривалі бактерії, які присутні в цих популяціях, ймовірно, знаходяться в пошкодженій, некультивованій формі [53]. Таким чином, високопродуктивні підходи секвенування можуть забезпечити детальне уявлення про бактеріальний склад молока, і цілком імовірно, що ці технології будуть використовуватися все частіше в майбутньому для дослідження факторів, які впливають на склад коров'ячого молока.

## **1.5. Технологічно-корисні бактерії сирого молока**

Як описано вище, сире молоко може містити різноманітну популяцію бактерій. Багато таких бактерій можуть згодом сприяти природному бродінню. У деяких ситуаціях певні штами були настільки успішними в цьому відношенні, що їх було виділено з молока та свідомо додано як закваски або добавки, призначені для надання бажаних властивостей ферментованим продуктам. Це може бути особливо важливим у ситуаціях, коли правила вимагають використання пастеризованого молока, і, таким чином, повторне введення молочних мікроорганізмів може компенсувати видалення комменсальних популяцій і пов'язаний з цим несприятливий вплив на смак отриманих продуктів.

### **1.5.1. *Lactococcus* (Лактококи)**

*Lactococcus* складається з семи видів, двох підвидів і одного біовару (<http://www.bacterio.cict.fr>; станом на листопад 2012 р.). З них *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* і *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* може домінувати в сирому молоці, сирі та інших (нетермічно підігрітих) молочних продуктах.

У молочних продуктах *Lactococcus lactis* і *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* і *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* зокрема, відомі насамперед як заквасочні

культури для сирної промисловості. *Lactococcus lactis* ssp. *biovar lactis diacetylactis* також відомий виробництвом своєрідних сполук, що сприяють розвитку смаку [54]. Хоча ці мікроорганізми природно присутні в сирому молоці та кустарно вироблених сирах [55], їх часто додають до пастеризованого молока для полегшення комерційного виробництва сирів (Сміт та ін., 2005). Їх основною активністю під час виробництва сиру є підкислення шляхом виробництва l-лактату. Однак вони також беруть участь у протеолізі, перетворенні амінокислот на ароматичні сполуки (спирти, кетони, альдегіди), утилізації цитратів та/або метаболізмі жирів [56]. Порівняння 20 штамів *Lactococcus lactis*, 10 ssp. *lactis* і 10 ssp. *cremoris*, підтвердив дві основні лінії підвидів, які були виділені на основі наявності або відсутності 4571 генів [57, 58].

Таким чином, вважається, що ці фенотипово подібні підвиди розійшлися приблизно 17 мільйонів років тому (Bolotin et al., 2004). Секвенування геному *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* IL1403 виявив присутність усіх відомих генів, необхідних для енергетичного метаболізму, включаючи низку генів, які беруть участь у ферментації, а також новий ген, *rohL*, що кодує піруватоксидазу, яка може відігравати роль у перемиканні між режимами ферментації. Було ідентифіковано сорок три вставні елементи, розподіл яких свідчить про те, що могла відбутися нещодавня рекомбінація між двома тісно спорідненими геномами [59]. Секвенування *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* MG1363 виявив деяку схожість зі штамом IL1403, включаючи протеолітичні системи та гени, пов'язані з використанням лактози. Відсутність генів вірулентності в цих геномах узгоджується з їхнім статусом «взагалі вважаються безпечними» (GRAS) [60]. Ряд інших видів *Lactococcus* природно присутні в сирому молоці. Хоча *Lactococcus raffinolactis* зазвичай не використовується в молочній промисловості через відсутність казеїнолітичної активності [61], нещодавне дослідження спостерігало синергізм між штамми *L. raffinolactis* і *Lactococcus lactis*, завдяки чому *L. raffinolactis* покращував утворення кислоти завдяки своїй здатності утилізувати продукти метаболізму, що утворюються

*Lactococcus lactis* [62], ймовірно, завдяки наявності повного набору генів для ферментації лактату та генів, відповідальних за транспортер олігопептиду ABC [63]. Незважаючи на те, що *L. garvieae* є визнаним патогеном для риби [64], він був виявлений у сирому молоці, деяких природних змішаних заквасках і кустарних сирах [65]. Геномні дослідження показали, що ізоляти *L. garvieae* з молочних і рибних джерел утворюють два різних кластери і що тільки ізоляти молочних продуктів мають здатність використовувати лактозу [65]. Існує гіпотеза, що цей ключовий фенотип був отриманий ізолятами молочних продуктів шляхом латерального перенесення генів [66]. Проте штами з обох кластерів не мають протеолітичної активності [65].

*Lactobacillus delbrueckii* можна розділити на три основні підвиди, тобто *ssp. delbrueckii*, який є рослинним походженням, *ssp. bulgaricus* і *ssp. Lactis* [67]. Представників двох останніх підвидів регулярно виявляли у зразках сирого молока, а також вони були домінуючими популяціями в багатьох сирах традиційного виробництва та сирах із захищеним зазначенням походження (PDO) [68]. Обидва виявляють сильну протеолітичну активність [67]. *Lactobacillus bulgaricus*, як наслідок його всесвітнього використання у виробництві йогурту, є однією з найважливіших лактобацил, пов'язаних із молочними продуктами. Він діє синергічно з *S. thermophilus*, забезпечуючи швидкий ріст і підкислення з бажаними органолептичними властивостями [69]. Відомо, що низка факторів відіграє роль у цьому «протокоопераційному» процесі, включаючи деградацію молочних білків *L. bulgaricus*; також виробництво форміату та CO<sub>2</sub> *S. thermophilus* може стимулювати ріст *L. bulgaricus*. Геноміка виявила важливі фактори, які можуть відігравати роль у цій корисній взаємодії. Хоча *L. bulgaricus* кодує повний набір генів для біосинтезу фолієвої кислоти, вважається, що *S. thermophilus* необхідний для виробництва п-амінобензоату, який живить цей шлях. Крім того, аналіз *in silico* передбачив існування обмеженої кількості пов'язаних із клітинною стінкою та позаклітинних білків, які могли сприяти прямому контакту між *L. bulgaricus* та *S. thermophilus*. Як і у випадку з іншими мікроорганізмами,

асоційованими з молоком, геномні дослідження показують, що геном *L. bulgaricus* перебуває в активному стані елімінації генів і зменшення розміру, але містить гени, які кодують повні транспортні системи для лактози, а також манози, глюкози, фруктози та гліцерину [70]. Наприклад, промислово важлива бактерія *L. bulgaricus*, штам 2038, має низку унікальних особливостей, включаючи набір генів, залучених до синтезу екзополісахаридів, що може покращити синарезис (відділення рідини), а також текстуру, в'язкість і смакові відчуття кінцевого продукту. Цей штам також містить більший геном, ніж інші штами .

У сирому молоці є кілька інших лактобактерій, кількість яких збільшується під час виробництва молочних продуктів і може стати особливо домінуючою під час дозрівання сиру (Henri-Dubernet et al., 2008). Ці популяції, які часто називають нестартерними LAB (або NSLAB), мають здатність адаптуватися до умов дозрівання сиру, де багато поживних речовин, рН знижується, а вміст вологи низький. Тут вони здатні здійснювати протеоліз і ліполіз для отримання багатьох кінцевих продуктів, які сприяють розвитку смаку та текстури сиру [56]. До них належать *L. casei*, *Lactobacillus paracasei*, *L. plantarum/paraplantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* і *Lactobacillus curvatus*, *L. brevis*, *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus crispatus*, *L. fermentum* і *Lactobacillus gasseri*.

### **1.5.2. *Streptococcus* (стрептококи)**

Рід *Streptococcus* складається з 97 видів і 17 підвидів ([www.bacterio.cict.fr](http://www.bacterio.cict.fr)). Хоча багато родів стрептококів є патогенними, *S. thermophilus* має статус «GRAS» і часто виділяється з молочного середовища, включаючи сире молоко, натуральні закваски та сирну масу [71]. Штами *S. thermophilus* також були виявлені з шкіри дійок корів, корівниках і молочних заводах [35]. *Streptococcus thermophilus* є термофільним LAB, який широко використовується як закваска у виробництві молочних продуктів. Його часто

вважають другою за важливістю промисловою молочною закваскою після *Lactococcus lactis*. Його важливість у молочних продуктах пояснюється його здатністю швидко перетворювати лактозу в лактат; швидке зниження рН; і виробництво важливих метаболітів, включаючи низькі рівні форміату, ацетоїну, діацетилу, ацетальдегіду та ацетату [72]. Багато штамів *S. thermophilus* виробляють екзополісахарид, який сприяє бажаній в'язкій текстурі та реологічним властивостям кисломолочних продуктів, зокрема йогурту. У сирі *S. thermophilus* використовується окремо або в поєднанні з кількома лактобактеріями та мезофільними заквасками, але в йогурті він завжди використовується з *L. bulgaricus*. Поки *S. thermophilus*, як правило, легко виділяється традиційними мікробіологічними методами.

Секвенування повного генома *S. thermophilus* показало, що ця бактерія демонструє 80% подібності з іншими стрептококами, що вказує на те, що вона розділяє значну частину загальної фізіології та метаболізму зі своїми патогенними родичами. Аналіз показує, що їхній спільний предок датується 3000–30000 роками, що приблизно відповідає витокам людської молочної діяльності (тобто приблизно 7000 років тому). Виду не вистачає ряду функціональних генів, які зазвичай зустрічаються в інших стрептококах, включаючи багато генів, які беруть участь у використанні вуглеводів, а також гени, пов'язані з вірулентністю, наприклад, гени для деяких поверхневих білків, які необхідні для адгезії до поверхонь слизової оболонки, і гени модифікації антибіотиків. Цей недолік забезпечує переконливі докази на підтримку статусу GRAS *S. thermophilus*.

Інші стрептококи, пов'язані з молоком і молочними продуктами, включають *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus bovis* і *S. macedonicus*. *Streptococcus macedonicus* було виділено з кустарних сирів із сирого молока [73] і продемонстрував деякі бажані характеристики з точки зору молочної технології. Вони включають здатність підкислювати та виробляти пептидази та генерувати інгібіторні сполуки, хоча, що важливо, не мають стійкості до антибіотиків та гемолітичної

активності [74]. Секвенування геному молочного ізоляту *S. macedonicus* показало, що бактерія зазнає регулярного розпаду геному, про що свідчить наявність великої кількості псевдогенів.

### **1.5.3. *Propionibacterium* (пропіонібактерії)**

Рід *Propionibacterium* включає дві різні групи з різних середовищ існування, тобто штами, які зазвичай зустрічаються на шкірі людини, називаються «групою вугрів», і штами, виділені з молока та молочних продуктів, які називаються «молочними» або «класичними» пропіоновими бактеріями. Примітно, що також було стверджено, що молочні пропіонобактерії мають корисні для здоров'я властивості [75]. Молочна група пропіонобактерій включає чотири види: *Propionibacterium freudenreichii*, *Propionibacterium acidipropionici*, *Propionibacterium jensenii* та *Propionibacterium thoenii* ([www.bacterio.cict.fr](http://www.bacterio.cict.fr)). *Propionibacterium freudenreichii* служить закваскою для швейцарських сирів. Вперше він був виділений більше століття тому з сиру Емменталь і сприяє утворенню дірок або «вічок» і формуванню аромату в цих сирах [27]. Інші види молочних *Propionibacterium* зазвичай виділяють з молока та різних видів сиру. Характерною рисою *P. freudenreichii* є ферментація лактату в пропіонат, ацетат і CO<sub>2</sub>, тоді як пов'язані відмінні присмаки виникають в результаті утворення жирних кислот через ліполіз і кислот з розгалуженим ланцюгом в результаті катаболізму амінокислот. Завдяки тривалому задокументованому використанню у виробництві сиру *P. freudenreichii* має статус GRAS [75].

### **1.5.4. *Leuconostoc* (лейконосток)**

Рід *Leuconostoc* складається з 23 видів і 4 підвидів ([www.bacterio.cict.fr](http://www.bacterio.cict.fr)). *Leuconostoc spp.* часто асоціюються з рослинним матеріалом, але деякі, зокрема види *mesenteroides* і *pseudomesenteroides*, також зустрічаються в молоці. Однак не виключено, що це пов'язано з їх введенням під час збору молока або подальшого зберігання і переробки. Зокрема, у цьому відношенні

*Leuconostoc spp.* мають здатність виживати на поверхнях, інструментах і пастеризаторах протягом тривалого періоду часу, а також протистояти термічній обробці та температурам охолодження [76]. *Leuconostoc spp.* погано ростуть у молоці через відсутність достатньої протеолітичної активності і, отже, потребують додавання або генерування іншими мікроорганізмами амінокислот або пептидів для стимуляції росту [76]. *Leuconostoc spp.* мають здатність виробляти газ (CO<sub>2</sub>), який відповідає за утворення вічок у деяких кустарних сирих сирах з блакитними прожилками [77] метаболізувати лактозу і цитрат; і виробляють лактат, ацетат, етанол, ацетальдегід, діацетил, ацетоїн і 2,3-бутандіол, які сприяють органолептичним властивостям ферментованих молочних продуктів.

Завдяки цим властивостям *Leuconostoc spp.* можуть діяти як корисні культури NSLAB.

#### **1.5.5. *Enterococcus* (ентерококи)**

Ентерококи є найбільш суперечливою групою бактеріальних бактерій, пов'язаних із їжею. Ентерококи займають різноманітні екологічні ніші, включаючи шлунково-кишкові тракти людей і тварин [67] і, залежно від розглянутого штаму, можуть розглядатися як закваски, пробіотики, псування або патогенні організми [78]. Завдяки своїй психротрофній природі, здатності виживати в несприятливих умовах, включаючи високу температуру та високу солоність, а також пристосованості до різних субстратів для росту та умов зростання, ентерококи можуть виживати при охолодженні. У лабораторних експериментах було показано, що штами цієї бактерії потенційно виживають після пастеризації і, таким чином, можуть бути частиною мікробної популяції як у сирому, так і в пастеризованому молоці, а також у наступних продуктах [67]. Дослідження сирів із сирого молока показують, що ентерококи є звичайним і часто важливим компонентом природних культур, які беруть участь у ферментації та сприяють дозріванню, смаку та аромату. Найпоширенішими видами ентерококів у молоці та молочних продуктах є *E.*

*faecalis* і *Enterococcus faecium*, але також зустрічаються інші, включаючи *E. durans* [79], *Enterococcus italicus* і *Enterococcus mundtii*. Ентерококи сприяють бродінню завдяки своїй протеолітичній активності; здатність гідролізувати молочний жир; і мають внесок у розробку ароматичних сполук, включаючи ацетальдегід, ацетоїн і діацетил [27]. Нещодавні проекти секвенування геному виявили великі набори генів, пов'язані з адаптацією до молочних продуктів, включаючи гени, задіяні в утилізації лактози та галактоолігосахаридів, у *E. mundtii*. Крім того, також було виявлено велику кількість передбачуваних детермінант стійкості до антибіотиків [80]. Важливо, що харчові ізоляти *E. faecalis* не мають великої кількості генів, які присутні в клінічних ізолятах. Вважається, що ці ознаки (включаючи гени адгезії та цілий профаг) сприяють розвитку інфекції людини [27].

#### **1.6. Мікрофлора молока-сировини, яке перебуває в охолодженому стані**

Під час процедури доїння молоко сире може бути забруднене мікрофлорою шкіри дійок, вимені, доїльним обладнанням і середовищем доїльного залу. Дана мікрофлора вважається багаторізноманітна на видовий і родовий склад та проявляє різну біохімічну активність, як в сирому молоці, так і вироблені ензими в молочних продуктах [1, 2, 3]. Психротрофні бактерії визначаються як бактерії, які ростуть при 7°C, хоча їхня оптимальна температура росту вища. Під час холодного зберігання після збору молока вони домінують у флорі, а їхні позаклітинні ферменти, переважно протеази та ліпази, сприяють псуванню молочних продуктів [4]. Позаклітинні ферменти можуть протистояти пастеризації (72 °C протягом 15 с) і навіть ультрависокій температурі (УВТ 138 °C протягом 2 с або 149 °C протягом 10 с) (5, 6, 7). Ліпази, гідролізуючи тригліцериди, спричиняють дефекти смаку, пов'язані з розщепленням жиру у вершках, маслі, сирі та продуктах ультрависокої температури (8, 9, 10). Протеази пов'язані з гіркотою в молоці, гелеутворенням



молока, стерилізованого методом УВТ, і зниженням виходу м'якого сиру. Більшість протеаз можуть розщеплювати казеїни і є надзвичайно термостабільними (5, 11). Загалом, психротрофи відіграють провідну роль у псуванні охолодженого молока та молочних продуктів [12].

Кількість психротрофів, які розвиваються після збору молока, залежить від температури і часу зберігання. У санітарних умовах <10% загальної мікрофлори є психротрофами, на відміну від >75% в антисанітарних умовах (5). Психротрофні бактерії багатьох родів були виділені з молока, як грамнегативна мікрофлора (*Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Enterobacter* і *Flavobacterium*), так і грампозитивна мікрофлора (*Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Microbacterium*, *Micrococcus* *Streptococcus*, *Staphylococcus* і *Lactobacillus*) (6, 13, 14). З них *Pseudomonas* є найбільш часто відомим психротрофом у сирому молоці (15, 16, 17).

Вважається, що під час ферментації харчових продуктів мікробні спільноти містять велику кількість культивованих видів (18, 19, 21). Незважаючи на те, що звичайні методи культивування все ще широко використовуються для забезпечення мікробіологічної якості молока, було проведено дуже мало досліджень для ідентифікації культивованих мікробних спільнот у молоці за допомогою засобів молекулярної ідентифікації. Дельбес та ін. (20), використовуючи ген 16S рРНК, показали, що культивовані бактеріальні спільноти в сирому молоці були дуже різноманітними. Проте ці дослідники проаналізували лише одну пробу молока в зимовий період.

В Ізраїлі, за оцінками молочної промисловості, психротрофи можуть спричинити близько 10% втрати молочних жирів і білків. Дослідження [1] з моніторингу сезонної динаміки культивованих психротрофних спільнот у сирому молоці з чотирьох ферм в Ізраїлі показали наступне. Під час холодного зберігання після збору молока в мікрофлорі домінують популяції психротрофних бактерій, а їх позаклітинні ферменти, головним чином протеази і ліпази, сприяють псуванню молочних продуктів. Протягом 10

місяців досліджували різноманітність, динаміку та ферментативні властивості культивованих психротрофів у сирому молоці з чотирьох ферм. Близько 20 % ізолятів виявилися новими видами, що вказує на те, що ще багато чого потрібно дізнатися про культивованих психротрофів у сирому молоці. Психротрофні ізоляти були ідентифіковані та класифіковані на сім класів. Переважали три класи з високою видовою насиченістю (від 18 до 21 виду на клас) у різні пори року: гаммапротеобактерії навесні та взимку, бацили влітку та актинобактерії восени. Чотири другорядні класи були *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Flavobacteria* та *Sphingobacteria*. Домінуючі класи були виявлені на всіх чотирьох молокозаводах, хоча кожна молочна ферма мала свій унікальний «бактеріальний профіль». Більшість, але не всі бактеріальні ізоляти, мали або ліполітичну, або і ліполітичну, і протеолітичну активності. Лише кілька ізолятів показали протеолітичну активність. Домінуючі роди, *Pseudomonas* і *Acinetobacter* (*Gammaproteobacteria*), показали в основному ліполітичну активність, *Microbacterium* (*Actinobacteria*) були високоліполітичними і протеолітичними, а молочнокислі бактерії (*Lactococcus* і *Leuconostoc*) показали дуже незначну ферментативну здатність. Таким чином, склад психротрофної бактеріальної флори в сирому молоці відіграє важливу роль у визначенні якості молока. Автори вказують, що моніторинг домінуючих психротрофних видів, відповідальних за виробництво термостабільних протеолітичних і ліполітичних ферментів, пропонує чутливий і ефективний інструмент для підтримки кращої якості молока в молочній промисловості.

### **1.7. Вплив пастеризації на мікрофлору молока-сировини**

Пастеризація сирого молока проводиться для зменшення мікробного навантаження на молоко і, зокрема, для обмеження кількості мікроорганізмів, що викликають псування, і для запобігання захворюванням харчового

походження. Однак цей процес також зменшує кількість мікроорганізмів, які зазвичай сприяють бажаним сенсорним властивостям сирів із сирого молока. У цих випадках закваски, які, як відомо, створюють бажані смаки та аромати, як обговорювалося вище, додають до молока після пастеризації. Типова обробка пастеризацією молока — це «короткочасний високотемпературний» підхід (HTST), що передбачає нагрівання до 72 °C протягом 15 секунд. Деякі країни збільшили температуру та/або час впливу [81]. Хоча це може допомогти ще більше зменшити кількість бактерій [82] і знищити мікроорганізми, що викликають занепокоєння, включаючи *Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis* [83] і *L. monocytogenes*, також були деякі припущення, що цей підхід може сприяти активації спор, які можуть перебувати в неактивному стані в молоці [84]. Теплова обробка молока зазвичай зменшує психротрофні та мезофільні популяції, залишаючи дві основні групи для розгляду після цього, а саме, термостійкі мікроорганізми та бактерії, введені через забруднення після пастеризації. Після пастеризації деякі мікроорганізми можуть перейти в «життєздатний, але непридатний для культивування» стан, що означає, що вони можуть бути недооцінені традиційними методами культивування [85]. Результати нещодавнього незалежного дослідження, проведеного нашою групою, узгоджуються з цією теорією, показуючи більш різноманітну популяцію бактерій у пастеризованому молоці, ніж очікувалося [36].

Коли ми розглядаємо термостійкі бактерії, особливо важливо пам'ятати про спороутворюючі мікроорганізми. Ці бактерії можуть потрапляти в молочний ланцюг із ґрунту, силосу та підстилки і, що важливо, є стійкими до пастеризації. Спороутворювачі, такі як *Clostridium sporogenes*, *Clostridium butyricum* і *Clostridium tyrobutyricum*, мають потенціал для виживання та росту при температурі охолодження, а також потенціал для використання вуглеводів, білків і лактату з молока [86]. Дійсно, клостридії досить часто виявлялися в сирому молоці [87], і вони можуть сприяти псуванню наступних сирних продуктів, викликаючи пізнє вздуття. Дефект, який особливо

пов'язаний з *C. tyrobutyricum*, що призводить до неприємного смаку та дефектів текстури сиру [88]. Незалежний DGGE/TTGE визначив *C. tyrobutyricum*, а також *C. sporogenes*, *C. butyricum* і *Clostridium beijerinckii* як можливі причини. Інші спороутворюючі забруднення молока включають *B. cereus*, *Bacillus sporothermodurans* і *Geobacillus stearothermophilus*. *Bacillus cereus* є головним збудником псування пастеризованого молока та молочних продуктів, які зберігаються при температурі охолодження, спричиняючи неприємний присмак і згортання. Ця бактерія також викликає занепокоєння щодо безпечності харчових продуктів, оскільки вона може виробляти різні типи токсинів і є потенційним агентом харчового отруєння [89]. У Європейському Союзі у 2010 році 3,8% усіх проб молока були позитивними на токсин *Bacillus* (Європейське агентство з безпеки харчових продуктів, 2012).

### **Підсумки з огляду літератури**

З аналізу літературних джерел спостерігаємо, що мікрофлора молока-сировини надзвичайно багата і різноманітна, як за видовим, так і кількісним складом. При цьому джерел, які формують її склад є достатньо, проте уникнути їх неможливо. У мікробіоті молока-сировини виявляють, як технічно-бажані мікроорганізми, які покращують процеси дозрівання сирів, так і технічно-шідлива мікрофлора, яка завдає значних економічних збитків, оскільки проходить вибраковування молочних продуктів під час зберігання через їхню активність. Крім того молочні продукти також відносяться до категорії продуктів, які швидко псують, а наявні патогенні мікроорганізми можуть спричинити серйозні порушення шлунково-кишкового тракту. Проте, у технології виробництва молочних продуктів на першому місці має стояти завдання – це виробництво безпечного продукту. З цією метою застосовують теплову обробку молока-сировини за різних температури та режиму. При цьому дана технологічна операція має бути застосована у такому вигляді, що

знищити патогенні і небажанні мікроорганізми, водночас продукт має збагатити поживні речовини, а у технології сирів, бажано ще й молочнокислу мікрофлору, яка приймає участь у мікробіологічних процесах. Тому вивчення мікрофлори молока-сировини та її зміни за режимів пастеризації і подальшого зберігання є питання актуальне у харчовій промисловості. Оскільки виробники завжди хочуть збільшити термін придатності продукції, що реалізується.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Теоретичні та лабораторні дослідження за темою кваліфікаційної роботи проведено на кафедрі харчової біотехнології і хімії ТНТУ ім. І. Пулюя. Окремі аспекти виробничих досліджень з визначення мікробіологічних показників молока-сировини планувалися і проводилися на молокопереробних підприємствах. Досліджено 50 проб молока-сировини та 50 проб молока пастеризованого за двох режимів та 10 проб молока питного за зберігання за  $+4 \pm 2$  °С.

Метою роботи було визначити зміни мікробіоти молока за двох режимів пастеризації та використання молока з низьким і великим вмістом мікроорганізмів.

Об'єктом дослідження була молочна сировина, мікробіота молока, ефективність пастеризації.

Предмет дослідження були зміни мікробіоти молока за двох режимів пастеризації та різного мікробного обсіяння.

Схема експериментальної частини роботи з виконання досліджень відповідно до мети проведена у три етапи (рис. 2.1).

У першій частині дослідження були спрямовані на визначення кількісного співвідношення між найбільш поширеними групами мікроорганізмів, які формують мікробіоту молока-сировини двох гатунків: першого та екстра.

У другій частині роботи проводили експерименти з визначення впливу пастеризації молока-сировини (першого та екстра гатунків) за  $t = +72$  °С та  $t = +91$  °С з витримкою в межах 15 – 20 с на залишкову кількість мікробіоти різних груп (мезофільну, психротрофну, молочнокислу, термостійку та спороутворюючу).



**Рис. 2.1. Схема експериментальних досліджень за темою роботи**

У третій частині роботи експериментальні дослідження були спрямовані на встановлення кількісних змін мікробіоти різних груп за умови зберігання молока питного за  $t = +4\text{ }^{\circ}\text{C}$  протягом 10 діб, але з різним початковим вмістом: 1)  $5,8 \pm 0,3$  тис.КУО/мл; 2)  $37,1 \pm 1,2$  тис.КУО/мл; 3)  $1,6 \pm 0,1$  тис.КУО/мл; 4)  $13,9 \pm 0,7$  тис.КУО/мл. До того ж визначали зміни значення титрованої кислотності за даних режимів зберігання.

Визначення мікробіоти різних груп у молоці-сировині та молоці питному було проведено відповідно до загальноприйнятих методик, які

вказані у практикумі, Бергілевич та ін., 2010 [27]. Тировану кислотність класичним стандартним методом [49].

Статистичний аналіз було виконано за допомогою одностороннього дисперсійного аналізу і програми Statistic 10, за тестом Фішера, де  $P \leq 0,05$  вважається статистично значущим. Усі результати були виражені як середні значення.



## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

#### 3.1. Закономірності формування мікробіоти пастеризованого молока питного

У молоці-сировині міститься складна мікробна спільнота, включаючи мікроорганізми промислового значення, які мають корисні для здоров'я властивості та мікроорганізми, які викликають занепокоєння з точки зору якості та безпечності виготовлених харчових продуктів. Таким чином, мікробіота молока-сировини знаходиться в центрі постійної уваги на підприємствах, де його перероблюють. Внаслідок цього, тестування безпечності та якості сирого та питного (пастеризованого) молока відбувається щодня, на переробному підприємстві різними стандартними методами. На мікробний склад молока сирого впливають кілька різних параметрів, таких як, присутність мікроорганізмів в середині дійкового каналу, наявність їх на поверхні шкіри дійок, наявність у повітрі, у кормах, а також впливають інші фактори навколишнього середовища, включаючи умови утримання, якість водопостачання та гігієну обладнання [2, 9, 10, 11]. Мікробні популяції постійно присутні у зразках молока і відрізняються залежно від підприємства, з якого воно було отримане. Але загалом у зразках молока сирого охолодженого переважають молочнокислі бактерії та *Pseudomonas*, які є головною причиною псування молока під час його реалізації (зберігання в умовах холодильника). Тому для зменшення кількості мікробіоти у молоці застосовують теплову обробку (пастеризацію, стерилізацію чи УВТ-обробку). Вважається, що мікробіота пастеризованого молока визначається відсотком терmostійких бактерій, які витримують температуру пастеризації, і бактеріями, пов'язаними з постпастеризаційним забрудненням, до яких входять психротрофні бактерії, такі як *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Bacillus* та інші [8, 27, 84].

Стандартні (класичні) мікробіологічні методи, які засновані на підрахунку утворених культур, припускали, що найбільш поширені мікроорганізми молока є чутливі до тепла і зазвичай не виживають після пастеризації [5]. Останні сучасні дослідження [53] виявили, що мікробіологічні підходи, які засновані на виявленні мікробних культур, показують, що пастеризація зумовлює знешкодження *Pseudomonas* в пастеризованому молоці за початкового вмісту  $1 \times 10^6$  КУО/мл. Проте молекулярно-генетичні методи ідентифікації мікроорганізмів показують загальне зменшення даних бактерій у пастеризованому молоці, а не ліквідацію популяції *Pseudomonas*, що свідчить про те, що пошкоджені, але нежиттєздатні клітини все ще присутні у субстраті. Такі клітини є потенційно метаболічно активними, але їх неможливо культивувати на твердих середовищах, через те що ці клітини перебувають у сильному стресі, але вони не придатні для культивування. Цей висновок дає підставу вважати, що деяка кількість *Pseudomonas* знаходиться в комерційно пастеризованому молоці, та може впливати на строки його зберігання через активність в охолодженому стані. Однак вони не виявляються стандартними методами, які основані на культивуванні на щільних живильних середовищах.

Отже, для детального уявлення про склад мікробіоти сирого і пастеризованого молока після застосування різних теплових режимів та встановлення ефективних термінів зберігання, необхідно застосовувати поряд із класичними методами сучасні, які основані на використанні високопродуктивного секвенування ДНК. Такий підхід на нашу думку ґрунтовніше підходить до забезпечення простежуваності за безпечністю виготовлених молочних продуктів та щодо можливих строків його зберігання без застосування консервуючих агентів. Крім того у випадку застосування різних режимів теплової обробки підібрати такі, які вважаються найефективніші щодо зменшення кількості та біохімічної активності мікробіоти.

### 3.2. Показники кількісного вмісту мікроорганізмів у молоці-сировині до теплової обробки

На сьогоднішня вважається, що основні закономірності від яких залежить кількість мікроорганізмів у питному-пастеризованому молоці зводиться до таких чинників: вихідного (початкового) рівня мікробіоти у молоці до пастеризації; температури та часу дії теплової обробки; видового складу мікробіоти молока сирого; правильної експлуатації пастеризаційно-охолоджувальної установки. Зокрема, відмирання наявних у молоці сирому мікроорганізмів за впливу високих температур теплової обробки є короткочасним фізичним процесом. Оскільки, ефективність пастеризації виражається у відсотках, як відношення кількості відмерлих бактеріальних клітин до вмісту їх в нативному молоці. Зідси виходить, що чим більша кількість загальної мікробіоти у молоці до пастеризації, тим більшу кількість виявимо мікрофлори у пастеризованому молоці.

Загальне правило при виборі режимів пастеризації при виробництві питного молока зводиться до того, що необхідно підбирати такі режими, які б максимально знищували всі наявні мікроорганізми, але мінімально впливали на корисні інгредієнти, на які багате молоко. Усі сучасні режими пастеризації зводяться до того, щоб у молоці була зруйнована фосфатаза – ензим, який руйнується за дещо вищих температурах пастеризації, ніж найбільш стійкий неспорутворюючий мікроорганізм – збудник туберкульозу. Відсутність фосфатази у молоці пастеризованому, вказує на дотримання відповідних режимів теплової обробки. Найбільш щадящий у молочній справі режим пастеризації за виробництва молока питного вважається  $72 \pm 0,5$  °C протягом 15 – 20 с.

Видовий склад мікробіоти сирого молока напряму впливає на кількість залишкових бактерій у питному молоці, оскільки мікроорганізми порізно реагують на теплову обробку. Найбільш термостійкі представники мікробіоти молока наступні: роди *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*,

*Streptococcus* (термофільна група) та група психротолерантних бактерій. Власне, саме з ними пов'язані швидкі темпи зниження якості та поява вад у питному молоці за зберігання навіть в охолоджену вигляді. Тому на першому етапі експериментальної частини роботи нами було визначено мікробіоту сирого молока та зміни її за двох режимів пастеризації: перший щадящий ( $72 \pm 0,5$  °C протягом  $20 \pm 0,5$  с) – щадящий; та другий більш жорсткий ( $91 \pm 1$  °C протягом  $20 \pm 0,5$  с).

Результати оцінки молока-сировини за кількісними показниками мікрофлори відповідно до вимог стандарту наведено на рис. 3.1.



**Рисунок 3.1. – Розподіл молока-сировини за мікробіологічними вимогами (ДСТУ 3662-2018) на переробному підприємстві**

Встановлено (рис. 3.1), що основна питома маса молока-сировини припадає на два гатунки – це екстара та вищий, тобто до 100 тис. КУО/мл та від 101 до 300 тис. бактерій /мл. Так кількість молока екстра гатунку становила приблизно 33,8 %, а вищого 45,6, тобто на ці два гатунки припадало до 80 % усього молока.

На молоко-сировину найнищого гатунку відповідно до національного стандарту (перший від 301 до 500 тис. КУО/мл) припадало до 14,8 % питомої

маси молока, та 5,8 % партій були негатурковими. Однак у країнах Європейського Союзу існує тільки молоко одного гатунку, яке допускається на переробку з максимально можливим мікробним обсягом до 100 тис. в мл., тобто воно прирівнюється до нашого екстра гатунку. Враховуючи це, іолокопереробні підприємства можуть під час переробки такого молока використовувати нижчі теплові режими його обробки, оскільки, як було сказано вище, кількість бактерій у питному молоці прямопропорційно залежить від вмісту їх у нативному молоці сирому. Тому нами було порівняно кількісні значення вмісту мікроорганізмів у двох гатунках та з'ясувати, які групи мікрофлори молока сирого охолодженого при прийманні на переробку найбільш присутні та ймовірно впливають на якість молока питного. Кількісні показники різних груп мікрофлори у молоці-сировині екстра та першого гатунку наведено в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

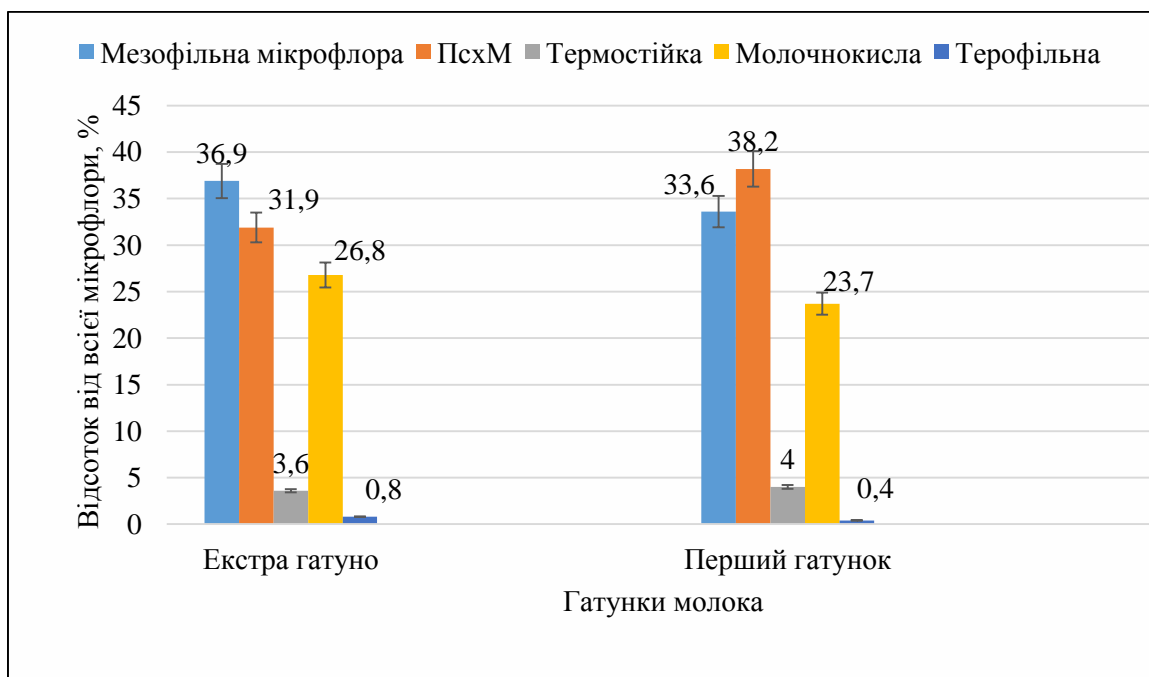
**Кількість мікроорганізмів різних груп у молоці-сировині, залежно від гатунку,  $\bar{x} \pm SD$ , n=10**

Мікрофлора	Кількість бактерій у 1 мл молока, КУО	
	екстра гатунку	першого гатунку
Мезофільна група	$8,7 \pm 0,4 \times 10^4$	$4,4 \pm 0,2 \times 10^5$
Психротрофна група	$7,5 \pm 0,3 \times 10^4$	$5,0 \pm 0,3 \times 10^5$
Термостійка група	$8,5 \pm 0,2 \times 10^3$	$5,3 \pm 0,2 \times 10^4$
Молочнокисла група	$6,3 \pm 0,2 \times 10^4$	$3,1 \pm 0,1 \times 10^5$
Термофільна група	$1,8 \pm 0,2 \times 10^3$	$5,9 \pm 0,3 \times 10^3$

Із результатів проведених досліджень (табл. 3.1) видно, що у молоці першого гатунку крім більшого вмісту мезофільних мікроорганізмів (це група мікрофлори, яка в стандарті позначається, як МАФАНМ) виявлено ще на один порядок більший вміст психротрофної, термостійкої та молочнокислої групи мікрофлори. Загалом це вказує, що саме за рахунок більшого вмісту даних груп мікрофлори в молоці-сировині першого гатунку формується надмірна її

кількість у молоці пастеризованому, як залишкові бактерії. Адже саме дані групи мікрофлори вважаються біохімічно активні у молоці питному протягом часу його зберігання. Тому очевидно, що за рахунок збільшення вмісту цієї мікробіоти молоко швидше втрачає свої натуральні властивості, які притаманні сирому молоці. Також ми можемо стверджувати, що пастеризація молока-сировини нижчих гатунків (вищого та першого) повинна проходити за більш жорстких режимів через наявність більшої кількості стійкої мікрофлори, порівнюючи з молоком екстра гатунку.

Якщо умовно всю мікробіоту, яка наявна в молоці-сировині взяти за 100 % то виявлені нами п'ять груп мікрофлори будуть у відсотках мати наступні показники (рис. 3.2).



**Рисунок 3.2. – Характеристика за співвідношенням мікрофлори молока-сировини двох гатунків (екстра та першого)**

З аналізу даних досліджень (рис. 3.2) бачимо, що за співвідношенням між групами мікроорганізмів у прешому гатунку на 6,3 % більший вміст психротрофних мікроорганізмів та термостійких на 0,4 %. Ці результати нашого експерименту порівнюються з даними авторів, які повідомляють про переважання у сирому молоці охолодженому психротрофної та термостійкої

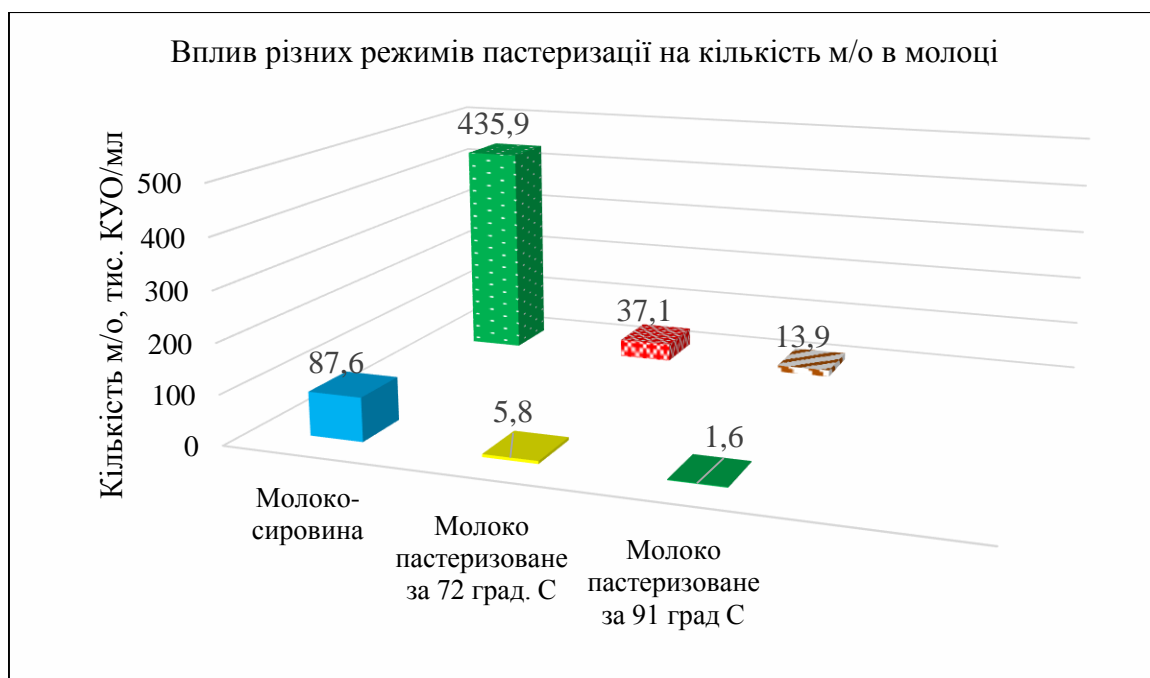
групи мікрофлори. Очевидно для прогнозування стійкості молока пастеризованого до зберігання необхідно звертати увагу на ці дві групи мікробіоти, оскільки визначення їх може дати характеристику про подальші зміни в молоці. Тому для правильного вибору технології пастеризації молока-сировини різного класу (гатунку) необхідно опиратися на результати дослідження про їх не тільки кількісний, але і видовий чи родовий склад наявної мікробіоти.

### **3.3. Зміни вмісту мікробіоти пастеризованих продуктів за використання режимів пастеризації**

На наступному етапі нами було проведено серію дослідів щодо впливу двох режимів теплової обробки молочної сировини з різною кількістю мікробіоти. Було визначено нами п'ять груп мікрофлори. Використали один режим пастеризації за температури 72 °С з експозицією в межах 15 – 20 с, а другий за 91 °С та такою самою експозицією 15 – 20 с. За цих режимів молоко-сировина екстра гатунку мало початкову кількість мезофільної мікробіоти  $87,6 \pm 5,1 \times 10^3$  КУО/мл, а першого гатунку –  $435,9 \pm 27,6 \times 10^3$  КУО/мл. Тобто в дослід взято молоко двох гатунків, щоб визначити залежність кількості мікроорганізмів у молоці пастеризованому від початкової кількості в сирому молоці. Крім того, буде встановлено як впливає високий температурний режим обробки молока на різні групи наявної мікробіоти. Результати проведених досліджень наведено на наступних рисунках. Зокрема, на рисунку 3.3 наведені дані щодо кількісного зменшення мезофільної мікрофлори (МАФАНМ), тобто тієї групи, яка прописана в національному стандарті на молоко питне пастеризоване.

З представлених на рисунку даних спостерігаються дві чітко визначених закономірності, перша, що інтенсивність відмирання бактерій під впливом теплової обробки залежало від температури пастеризації, а друга, що

залишкова кількість мікрофлори у молоці пастеризованому, залежить від початкового їх вмісту в молоці сировині.



**Рисунок 3.3. – Зміна мезофільної мікрофлори молока-сировини різних гатунків (екстра та першого) за впливу двох режимів пастеризації**

Температурний режим теплової обробки ( $t = 72\text{ }^{\circ}\text{C}$  експозиція 20 с) сприяв значному зменшенню мезофільних бактерій в двох випадках за різної їх початкової кількості. Втім ефективність пастеризації за умови використання молока екстра гатунку становила 93,4 %, а молока першого гатунку вона становила 91,5 %. В числовому виразі у першому випадку кількість мікробів у пастеризованому молоці становила  $5,8 \pm 0,3 \times 10^3$  КУО/мл, а в другому –  $37,1 \pm 1,2 \times 10^3$  КУО/мл, тобто практично в 6,4 раза більша кількість бактерій залишається у питному молоці при використанні сировини нижчої якості. Хоча у двох випадках проби молока-питного відповідали вимогам національного стандарту на даний вид продукту до  $1 \times 10^5$  КУО/мл.

Значно суворіший режим теплової обробки ( $t = 91\text{ }^{\circ}\text{C}$  експозиція 20 с) молока вірогідно більш згубно діяв на мезофільну мікробіоту, про що вказують числові дані ефективності пастеризації. Так при тепловій обробці молока екстра гатунку з початковим вмістом цих бактерій  $87,6 \pm 5,1 \times 10^3$



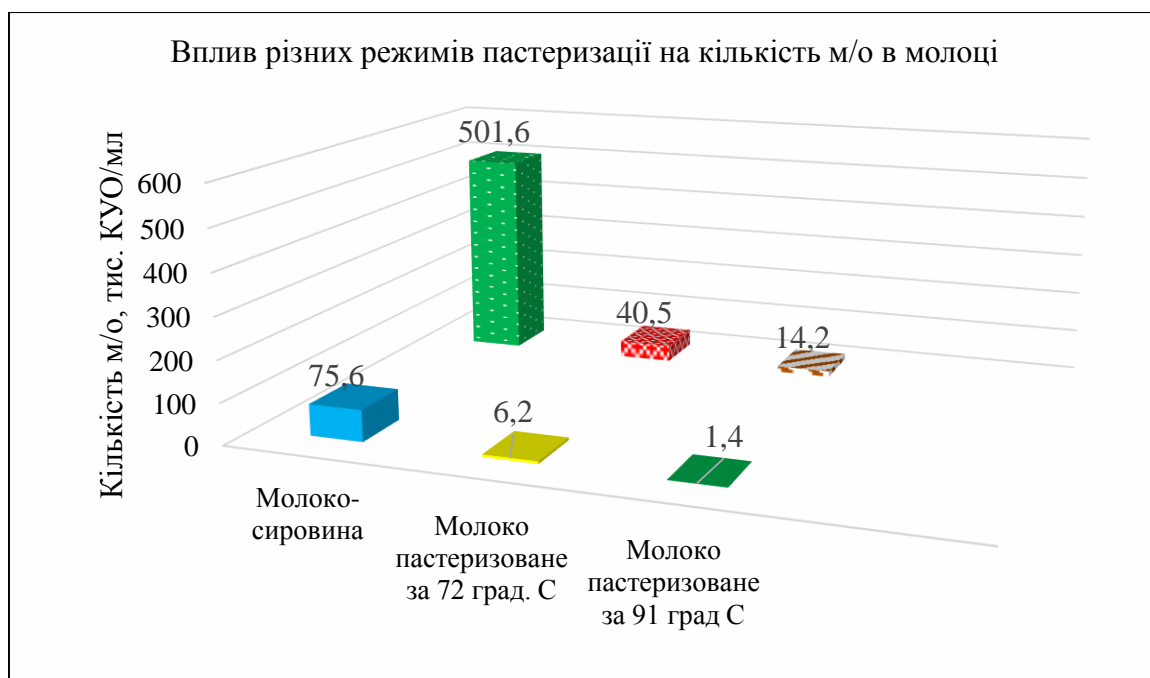
КУО/мл, ефективність пастеризації становила 98,1 %, а при використанні молока нижчої мікробіологічної якості, вона була 96,8 %. Тобто різниця між ефективністю пастеризації становила менше 1,5 %. Проте, у першому випадку кількість залишкової мезофільної мікрофлори була в середньому  $1,6 \pm 0,1 \times 10^3$  КУО/мл, а у другому їх вміст становив  $13,9 \pm 0,8 \times 10^3$  КУО/мл, тобто в 8,7 рази менша кількість бактерій в питному молоці за умови використання сировини кращої мікробіологічної якості.

Загалом, можна сказати, що мезофільна мікробіота не відноситься до стійкої, оскільки навіть за щадячого режиму пастеризації ефективність теплової обробки була вище 90 %. При цьому за використання для переробки молока-сировини екстра гатунку залишкова кількість даної мікрофлори у пастеризованому молоці буде в межах  $5 \times 10^3$  КУО/мл.

Оцінка впливу запропонованих режимів теплової обробки на доволі значну психротрофну групу мікрофлори молока-сировини наведена на рисунку 3.4. Хоча дана група мікробіоти молока сирого не внесена у стандарти на молоко-сировину та молоко-питне для оцінки його мікробіологічної якості. Втім сучасні технології зберігання молока-сировини до перероблення його на молочні продукти передбачають зберігання його за доволі низьких температур (+ 2... + 4 °С). Такі умови сприяють розвитку саме даної групи мікрофлори сировини, яка вважається небезпечною в технологічному плані, оскільки психротрофні бактерії продукують термостійкі протеолітичні і ліполітичні ензими. Дані ензими не руйнуються за теплової обробки, водночас в процесі зберігання питного молока спричиняють ліполізовані зміни в ньому, які проявляються прогірклим смаком чи присмаком.

З наведених на рисунку 3.4 показників спостерігаємо аналогічну динаміку зменшення мікрофлори за обраних режимів пастеризації, як щодо впливу на мезофільну мікробіоту, дані про яку наведено на рис. 3.3. Виявлено, що за щадячої пастеризації за температури 72 °С з експозицією в межах 15 – 20 с, психротрофна мікробіота зменшувалася в середньому на 92 %, незалежно від кількості бактерій, які були у молочній сировині (від 80 до 500 тис./мл).

Тобто дана група мікробіоти виявилася досить чутливою навіть до найнищого використаного нами у досліді режиму пастеризації.



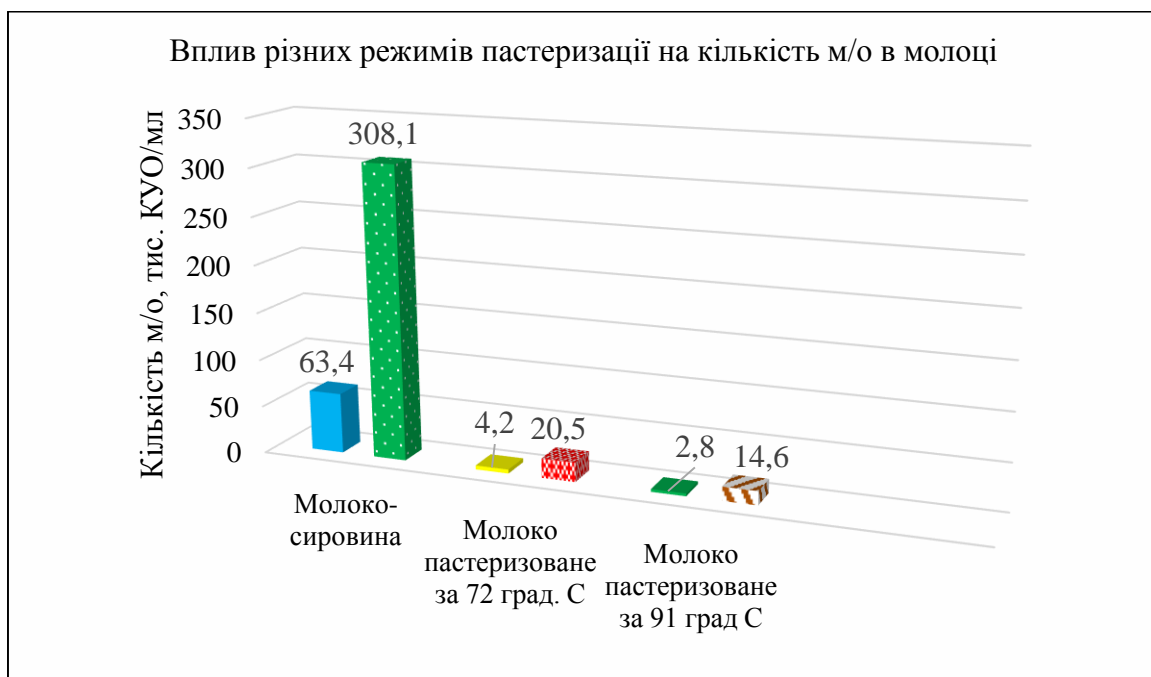
**Рисунок 3.4. – Зміна ПсхМ мікрофлори молока-сировини різних гатунків (ектра та першого) за дії двох режимів пастеризації**

За більш жорсткого режиму пастеризації (температура 91 °С з експозицією в межах 15 – 20 с) відмічено ефективніший вплив на інтенсивність загибелі психротрофної мікрофлори. Оскільки виявляли кількість життєздатних представників даних бактерій:  $1,4 \pm 0,2 \times 10^3$  КУО/мл за першого запропонованого нами режиму обробки та  $14,2 \pm 0,6 \times 10^3$  КУО/мл за другого з більшою кількістю мікрофлори до початку пастеризації у молочній сировині. За цих режимів ефективність теплової обробки була 98,1 % та 97,2 %, відповідно. Такі результати динаміки впливу теплової обробки на життєдіяльність психротрофних бактерій вказують на їх теплолабільність і за помірного вмісту у молочній сировині вони істотно не можуть змінити показники питного молока. Хоча дослідження [53] повідомляють, що психротолерантна мікрофлора може перебувати у молоці після пастеризації у некультивованому стані, а виділені після пастеризації з мікробних клітин

ензими бути причиною багатьох технічних вад молока або молочної продукції за тривалого часу зберігання.

Молочнокисла мікрофлора у сирому молоці становила приблизно четверту частину від усіх мікроорганізмів, що ми визначали. Відповідно за такої великої кількості в сировині необхідно, щоб запроваджені режими пастеризації максимально знищували її, а вміст у питному молоці був би мінімальним. Оскільки при недотриманні або незначному порушенні температурного режиму (підвищення температури вище + 8 °С) багато представників молочнокислої мікрофлори здатні до розвитку з ферментацією вуглеводів та стрімкої зміни кислотності. Хоча за звичай при зберіганні молока нижче + 6 °С, активізація молочнокислої мікрофлори практично не відбувається.

На рисунку 3.5. нами наведено результати дослідження щодо впливу обох температурних режимів обробки молочної сировини на кількість виживших молочнокислих бактерій.



**Рисунок 3.5. – Зміна молочнокислої мікрофлори молока-сировини різних гатунків (екстра та першого) за дії двох режимів пастеризації**

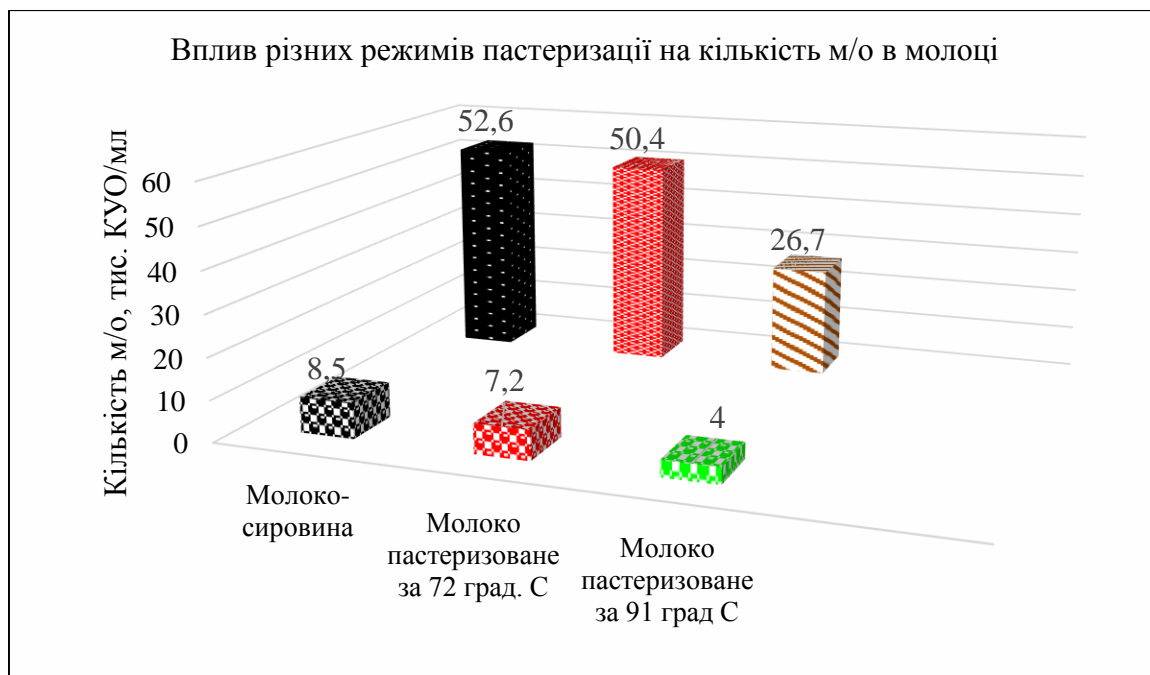
З даних аналізу, які представлені на рисунку 3.5 відмічаємо, що після обробки за нижчої температури (72 °С з експозицією в межах 15 – 20 с) в обох випадках досліду з великою і малою кількістю молочнокислих бактерій, ефективність пастеризації була на рівні впливу на мезофільну мікрофлору – 93,3 – 93,7 %. Втім у питному молоці в кількісному вираці залишкова молочнокисла мікрофлора становила  $4,2 \pm 0,2$  та  $20,5 \pm 0,8 \times 10^3$  КУО/мл, відповідно. Це вказує, на наявність у складі молочнокислої мікробіоти представників термостійкої мікрофлори, таких як термостійка молочнокисла паличка, термофільний стрептокок, болгарська паличка, термостійкі ентерококи. Очевидно саме вони виживають у пастеризованому молоці після впливу температури. Водночас такі види молочнокислої мікрофлори молочної сировини, як вершковий чи молочнокислий стрептококи, ароматичні лейконостоки та інші види, вважаються термолабільними і не виживають навіть за щадящої пастеризації.

За другого жорсткішого режиму пастеризації (91 °С з експозицією в межах 15 – 20 с) відбувається підвищення її ефективності до 95,6 у першому досліді з незначним вмістом бактерій та до 96,7 % у другому з великим мікробним забрудненням. Відповідно кількість залишкової молочнокислої мікрофлори за цього режиму обробки в двох варіантах досліду була  $2,8 \pm 0,1 \times 10^3$  КУО та  $14,6 \pm 0,6 \times 10^3$  КУО/мл.

Загалом дані вказують, що молочнокисла мікрофлора не є стійкою до температури пастеризації її стійкість була практично на рівні з мезофільною і психротрофною мікробіотою. Водночас, на нашу думку у її склад входять представники термостійких бактерій, які і виживають після пастеризації та становлять залишкову мікробіоту пастеризованих продуктів.

На наступних двох рисунках 3.6 та 3.7 наведено дані щодо ефективності зазначеної нами теплової обробки на представників термостійкої і спороутворюючої мікробіоти молочної сировини. Загально відомо, що представники даної мікробіоти в найбільшій кількості наявні у продуктах, які піддавалися пастеризації. Так, термостійкі молочнокислі палички завдають

значних збитків молочної промисловості через розвиток у молочних продуктах та зменшення строків їх зберігання. Хоча вважається, що вони біологічно не активні за температури вище + 8 – + 10 °С. Вважається, що у випадку наявності у молоці питному термостійкої групи бактерій, яка перевищує  $10 - 30 \times 10^3$  КУО/мл, то такий продукт має обмежений термін придатності і буде піддаватися змінам навіть за дотримання вимог при зберіганні.



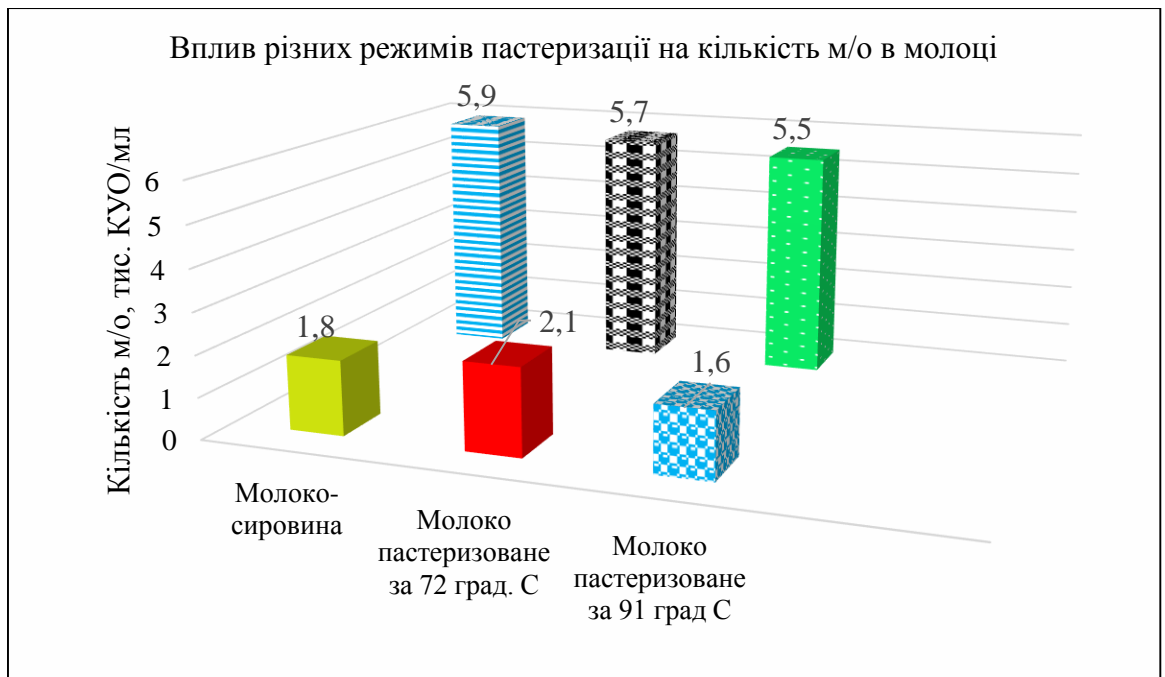
**Рисунок 3.6. – Зміна термостійкої мікрофлори молока-сировини різних гатунків (ектра та першого) за дії двох режимів пастеризації**

З даних аналізу отриманих результатів дослідження (рис. 3.6) бачимо не таку інтенсивність загибелі термостійкої мікрофлори, як за впливу на інші групи мікробіоти молочної сировини (мезофільну, психротрофну та молочнокислу), що наведено на попередніх рисунках. Так, ефективність дії пастеризації за режиму 72 °С з експозицією в межах 15 – 20 с становила всього 15,2 % за використання молока сирого з невеликою кількістю загального мікробного забруднення. За використання молока із великою мікробною контамінацією ефективність пастеризації ще була нижча і становила всього 4,2 %. У кількісному значенні залишкова термостійка мікробіота у першому досліді

становила  $7,2 \pm 0,4 \times 10^3$  КУО/мл та в другому досліді  $50,4 \pm 2,0 \times 10^3$  КУО/мл. Таким чином за умови пастеризації у першому випадку кількість бактерій не перевищувала загально визнане умовне значення у 10 тис. бактерій, у другому варіанті за використання нижчої якості молочної сировини їх кількість майже в 10 разів більша, що вказує про необхідність застосування сильніших режимів пастеризації.

Пастеризація за режиму температури  $91\text{ }^\circ\text{C}$  з експозицією в межах 15 – 20 с значно сильніше впливала на дану мікрофлору, ніж режим за температури  $72\text{ }^\circ\text{C}$ . Оскільки ефективність її становила 52,9 % при використанні молока з незначним мікробним забрудненням та 49,2 % при більшому мікробному забрудненню молока. Тобто ефективність даного режиму пастеризації була в 3,5 та 11,7 разів, відповідно сильніша, порівнюючи з режимом за температури  $72\text{ }^\circ\text{C}$ . У кількісному значенні у першому випадку залишкова термостійка мікробіота становила  $4,0 \pm 0,2$  та у другому  $26,7 \pm 1,8 \times 10^3$  КУО/мл. Тобто такий режим цілком достатній для можливого зберігання молока протягом трьох добового терміну, відповідно до стандарту, без видимих ознак псування його.

Останню групу молочної мікробіоти, яка вивчалася нами в контексті впливу на неї режимів пастеризації – це була технічно шкідлива для молочної промисловості спороутворююча мікрофлора. Дана група мікрофлори в молоці-сировині становила найменшу кількість (від 0,8 до 0,4 %), порівнюючи з іншими, групами, які визначалися. Основні представники цієї групи – це бактерії роду *Bacillus*, інколи *Clostridium*, особливістю яких є те, що вони утворюють термостійкі спори. Дані спорові форми бактерій практично не руйнуються за класичних режимів теплової обробки, тому виявлення у пастеризованому молоці значної кількості спороутворюючих бактерій вказує перш за все на погані у гігієнічні умови отримання молока. Крім того молочнокисла мікрофлора вважається антагоністичною щодо спороутворюючих бактерій. Результати проведеного дослідження щодо наявності її у пастеризованому молоці наведено на рисунку 3.7.



**Рисунок 3.7. – Зміна термофільної мікрофлори молока-сировини двох гатунків (ектра та першого) за впливу двох режимів пастеризації**

Виявлено (дані рис. 3.7), що спороутворююча термофільна мікрофлора практично не відмирає, за режиму пастеризації температура 72 °С з експозицією в межах 15 – 20 с. Через те, що у варіанті дослід з незначним вмістом мікроорганізмів, кількість спороутворюючих бактерій не зменшилася, а навіть збільшилася з 1,8 тис до 2,1 тис. в мл молока. У другому варіанті дослід з великим мікробним числом мікроорганізмів у молочній сировині їх кількість у питному молоці була в межах допустимої похибки, порівнюючи до обробки.

Застосування жорсткішого режиму пастеризації зумовило деяке зменшення кількості спороутворюючих бактерій. Зокрема у першому варіанті з незначним загальним бактеріальним забрудненням з 1,8 тис. до 1,6 тис. КУО/мл, а у другому варіанті з великим загальним бактеріальним забрудненням з 5,9 тис. до 5,5 тис. КУО/мл.

Отже, бачимо, що спороутворююча мікрофлора під час такої технологічної операції, як пастеризація, практично не зменшується. Для гальмування її активності у пастеризованих продуктах необхідно швидко

охолодження та зберігання в такому стані, оскільки вона чутлива до низької температури зберігання.

### 3.4. Динаміка мікробіоти і титрованої кислотності у питному молоці при зберіганні за умови різного початкового вмісту бактерій

Результати проведених досліджень, які були наведені в підрозділі 3.3 виявили, що залишкову мікробіоту молока пастеризованого за щадячого та жорсткого режиму пастеризації в основному становлять мезофільні, молочнокислі, психротрофні та термостійкі бактерії. Кількість, яких суттєво корелює з режимом пастеризації та початковим вмістом у молочній сировині до теплової обробки. У практичних умовах під час реалізації молока питного важливе значення має, щоб його залишкова мікробіота інтенсивно не розвивалася, оскільки в такому випадку швидко змінюються мікробіологічні показники безпечності та фізико-хімічні показники якості продукту. Таке молоко швидко втрачає стійкість при зберіганні. Тому вивчають динаміку мікробіоти і титрованої кислотності у молоці питному для встановлення реально можливих термінів його реалізації за температури визначеної ДСТУ.

Таблиця 3.2

#### Зміна мікробіоти у молоці пастеризованому за $t\ 72\ ^\circ\text{C} - 20\ \text{с}$ з різним початковим вмістом, $x \pm \text{SD}$ , $n=5$

Мікрофлора	Кількість бактерій у 1 мл молока, тис. КУО/мл		К-сть м/о (тис. КУО/мл) через зберігання ( $t\ 4 \pm 2\ ^\circ\text{C}$ ), діб			
			4		7	
Мезофільна	5,8±0,3	37,1±1,2	11,0±0,6	233,7±14,2	70,2±4,7	497,1±27,3
Психротрофна	6,2±0,3	40,5±1,7	41,5±1,8	328,0±17,8	82,4±5,1	575,1±34,9
Термостійка	7,2±0,4	50,4±2,0	9,4±0,7	65,5±3,6	10,8±0,7	80,6±5,6
Молочнокисла	4,2±0,2	20,5±0,8	14,3±0,8	77,9±4,5	33,2±1,8	168,1±11,3
Термофільна	2,1±0,1	5,7±0,2	2,3±0,1	6,8±0,3	2,5±0,1	6,7±0,3



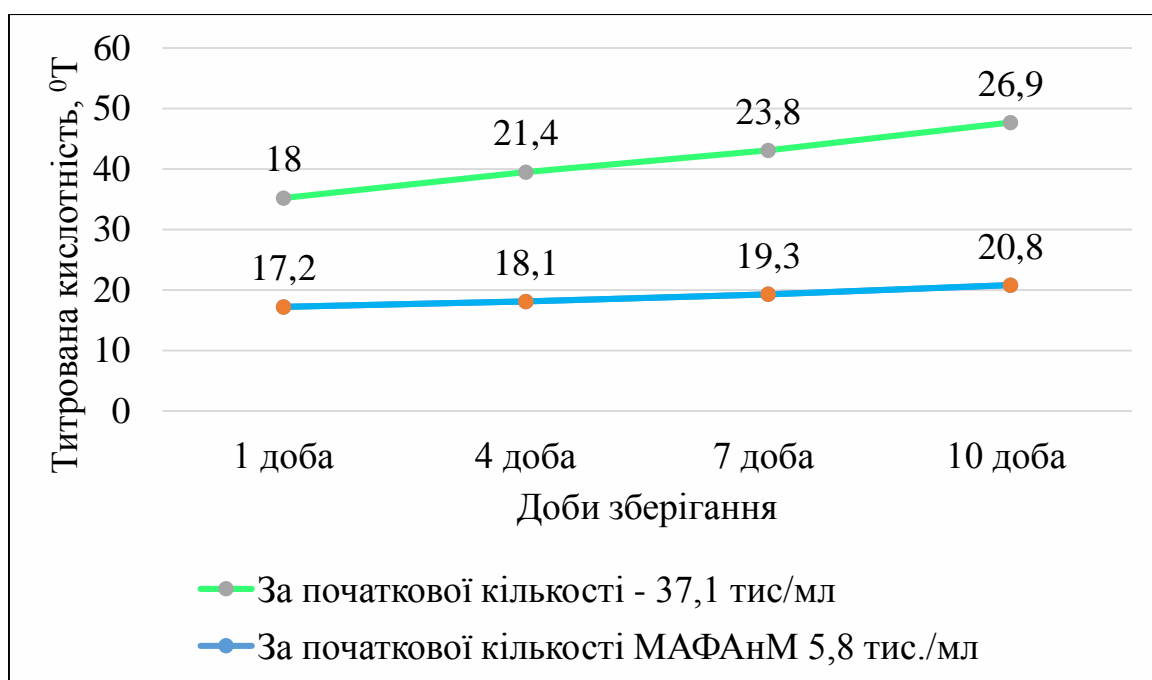
Встановлено (табл. 3.2), що навіть за щадячого режиму пастеризації +72 °С протягом 15 – 20 с молоко, яке містить залишкову мезофільну мікробіоту  $5,8 \pm 0,3 \times 10^3$  КУО/мл можна зберігати і реалізовувати за температури встановленої стандартом (+ 4 ± 2 °С) протягом 7 діб без можливого перевищення допустимого нормативу  $1 \times 10^5$  КУО/мл. Оскільки через сім діб зберігання у даному випадку кількість бактерій становила  $70,2 \pm 4,7 \times 10^3$  в мл, тобто молоко мало запас мікробіологічної стійкості приблизно в 30 тис. бактерій для наближення до граничної кількості.

У дрогому варіанті досліду, молоко містило кількість мезофільної мікробіоти  $13,9 \pm 0,7 \times 10^3$  КУО/мл, виявлено, що зберігати його не можна навіть чотири доби, оскільки за цей час кількість даної мікробіоти зросла до  $233,7 \pm 14,2 \times 10^3$  КУО/мл. Така кількість мезофільних мікроорганізмів більше, як в 2,3 раза перевищує норматив для молока питного. Дослідження також показують, що за даної температури найінтенсивніше розмножувалася психротрофна мікробіота, хоча вона і не контролюється національним стандартом.

Отже, дане дослідження показує, що при вмісті у молоці мезофільної мікробіоти до 10 тис. в мл його можна зберігати за стандартних режимів до 7 діб, при більшому мікробному обсіменінні необхідно корегувати температуру чи час зберігання.

Враховуючи мікробіологічні показники молока за зберігання, нами було визначено динаміку його титрованої кислотності (рис. 3.8). Як показують дані цього рисунку, що у варіанті першому за мінімальної кількості мікробіоти у пастеризованому молоці величина титрованої кислотності знаходилася у допустимих межах відповідно до стандарту (до 21 °Т), навіть упродовж 10 добового часу зберігання. Втім у варіанті другому, молоко якого містило біля 40 тис. бактерій в мл, величина кислотності інтенсивніше зростала, порівнюючи з молоком з низьким вмістом бактерій. Так як уже навіть через чотири доби зберігання вона перевищувала норматив у 21 °Т, що підтверджує

інтенсивність розмноження мікробіоти, яка має ферментуючі вуглеводи властивості.



**Рисунок – 3.8. Титрована кислотність у молоці пастеризованому за  $t\ 72\ ^\circ\text{C} - 20\ \text{с}$  з різним початковим вмістом мікробіоти,  $x \pm \text{SD}$ ,  $n=5$**

Зміни мікробіоти за зберігання молока питного після його пастеризації за жорсткішого режиму наведено в таблиці 3.3, а показника молочнокислого процесу – титрованої кислотності на рисунку 3.9.

Таблиця 3.3

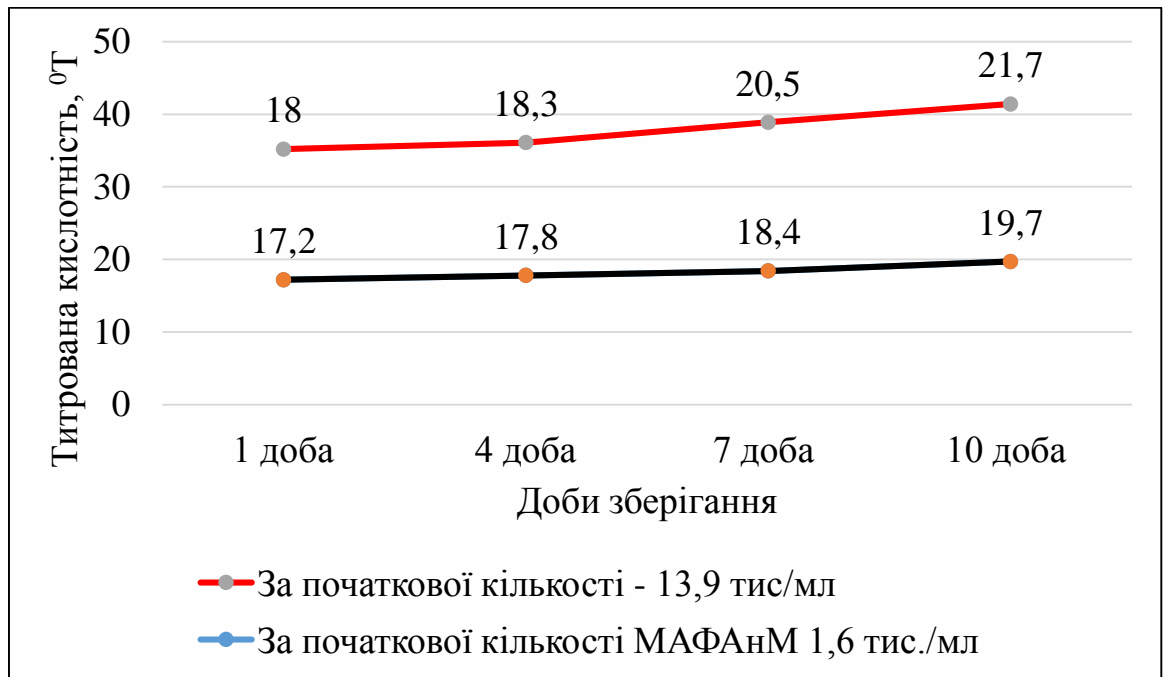
**Зміна мікробіоти у молоці пастеризованому за  $t\ 91\ ^\circ\text{C} - 20\ \text{с}$  з різним початковим вмістом,  $x \pm \text{SD}$ ,  $n=5$**

Мікрофлора	Кількість бактерій у 1 мл молока, тис.КУО/мл		К-сть м/о (тис.КУО/мл) через зберігання ( $t\ 4 \pm 2\ ^\circ\text{C}$ ), діб			
			4		7	
Мезофільна	1,6 $\pm$ 0,1	13,9 $\pm$ 0,7	6,9 $\pm$ 0,3	65,3 $\pm$ 3,6	16,5 $\pm$ 1,1	148,7 $\pm$ 8,5
Психротрофна	1,4 $\pm$ 0,1	14,2 $\pm$ 0,5	5,9 $\pm$ 0,3	62,5 $\pm$ 3,8	13,4 $\pm$ 1,1	143,4 $\pm$ 9,1
Термостійка	4,0 $\pm$ 0,2	26,7 $\pm$ 1,8	4,8 $\pm$ 0,2	34,7 $\pm$ 1,5	5,6 $\pm$ 0,2	40,0 $\pm$ 2,9
Молочнокисла	2,8 $\pm$ 0,1	14,6 $\pm$ 0,6	8,1 $\pm$ 0,4	45,3 $\pm$ 2,1	17,1 $\pm$ 0,8	94,9 $\pm$ 6,1
Термофільна	1,6 $\pm$ 0,1	5,5 $\pm$ 0,3	1,6 $\pm$ 0,1	6,0 $\pm$ 2,9	2,1 $\pm$ 0,1	7,1 $\pm$ 0,4

З даних таблиці 3.3 спостерігаємо меншу кількість усіх груп мікрофлори у молоці питному після пастеризації за 91 °С протягом часу його зберігання, ніж це було у молоці після пастеризації за 72 °С (табл. 3.2). Втім, як і в попередньому випадку найбільшу кількість у молоці питному упродовж зберігання становлять мезофільна і психротрофна мікробіота, як в пробах з незначним, так і з більшим початковим вмістом всієї мікрофлори. Водночас бачимо, що у пробах з невеликим бактеріальним забрудненням кількість регламентованих в ДСТУ на молоко питне мезофільних мікроорганізмів навіть через сім діб зберігання становила  $16,5 \pm 1,1 \times 10^3$  КУО/мл, що більше як в п'ять разів менше дозволеної кількості. Тобто у даному випадку молоко з такою початковою кількістю мікробіоти після пастеризації має значний запас мікробіологічної стійкості і може зберігатися протягом більшого часу, як сім діб.

У другому варіанті досліду питне молоко після пастеризації мало початкову кількість мезофільної мікробіоти  $13,9 \pm 0,7 \times 10^3$  КУО/мл, на четверту добу зберігання її кількість становив  $65,3 \pm 3,6 \times 10^3$  КУО/мл, що відповідає вимогам ДСТУ. Втім на сьому добу їх кількість становила  $148,7 \pm 8,5 \times 10^3$  КУО/мл, тобто практично на 50 тис. більше встановленого нормативу (100 тис./мл). Отримані результати цього досліду вказують, що максимально можливий строк зберігання такого молока за + 4 °С знаходиться між четвертою та сьомою добою.

Аналогічну тенденцію щодо зростання кількості мікробіоти у молоці питному з більшим вмістом мікроорганізмів підтверджують дані зміни титрованої кислотності (рисунок 3.9). Вони вказують, що кислотність продукту на сьому добу зберігання (температура холодильника +4 °С) зросла з 18 до 20,5 °Т. Дане значення кислотності, відповідає вимогам стандарту, проте знаходиться на верхній допустимій межі до 21 °Т. Тобто за показником мікробної забрудненості на цю добу молоко питне вже не відповідало стандартним вимогам, а за вмістом титрованих кислот практично було на грані дозволеної кількості.



**Рисунок – 3.9. Титрована кислотність у молоці пастеризованому за  $t$  91 °C – 20 с з різним початковим вмістом мікробіоти,  $x \pm SD$ ,  $n=5$**

У досліді з незначним мікробним обсіанням у питному молоці наявна кількість титрованих кислот дозволяє його зберігати навіть 10 діб. Це вказує, що основна запорука мікробної стійкості молока питного під час реалізації – це наявність у ньому мікробіоти до  $5 \times 10^3$  КУО/мл та дотримання температури + 4 °C протягом всього часу зберігання.

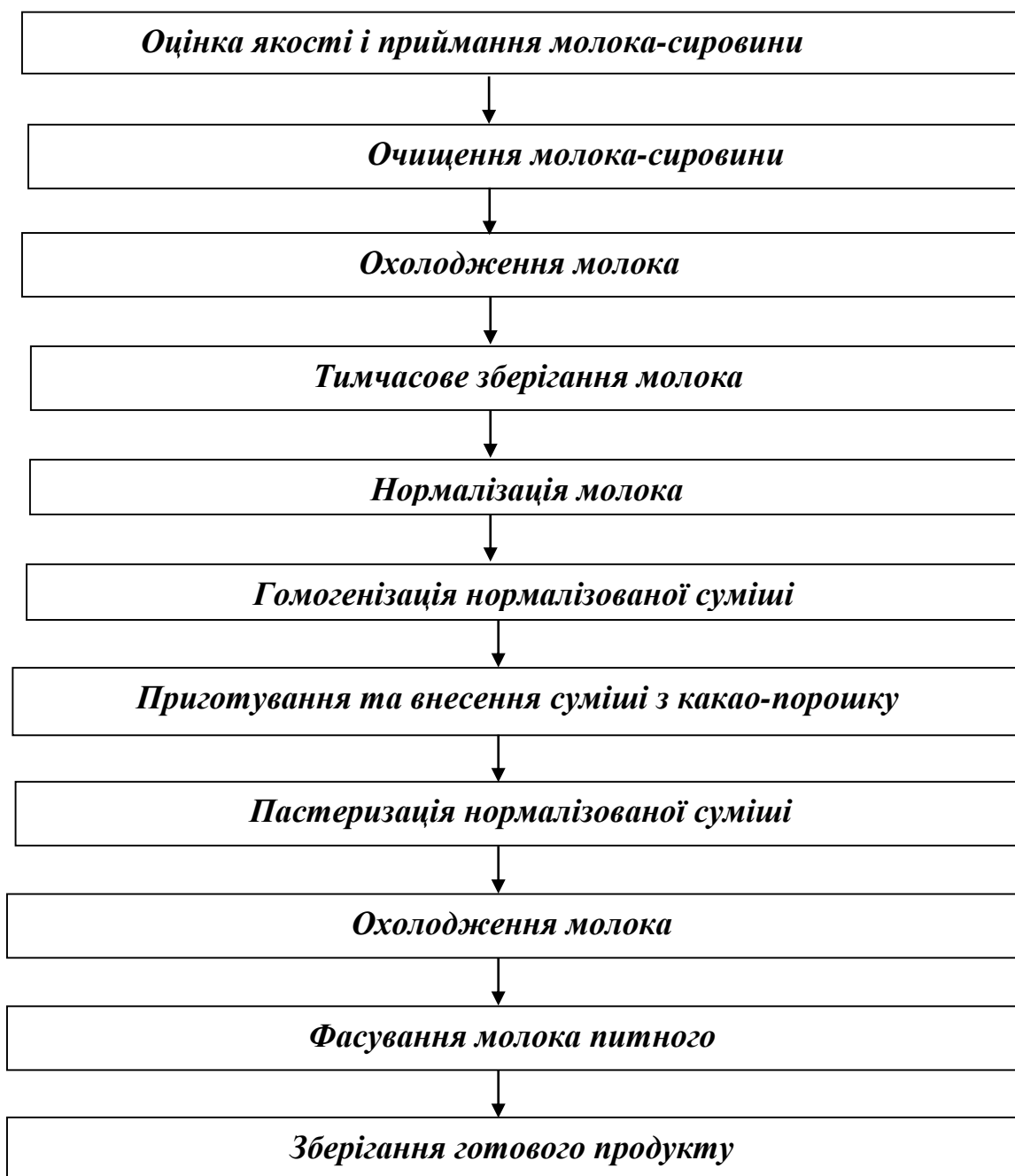
### **3.5. Виробництво молока питного з какао з масовою часткою жиру 1,0 %**

Одним із завдань роботи було розробити технологію виробництва молока питного з какао. На рисунку 3.10 наведена технологічна схема виробництва молока пастеризованого з какао з масовою часткою жиру 1,0 %. Дана схема передбачає наступні технологічні операції.

#### **3.5.1. Оцінка якості та приймання молока-сировини**

Під час приймання його на переробному підприємстві його оцінюють згідно ДСТУ 3662-2018 Молоко-сировина коров'яче. Молоко, яке

закупують, повинно бути натуральним, незбираним, чистим, без сторонніх не властивих свіжому молоку присмаків та запахів. За зовнішнім виглядом та консистенцією молоко повинно бути однорідною рідиною від білого до світло-жовтого кольору, без осаду та згустків. В молоці не допускається вміст інгібіторів. За фізико-хімічними, санітарно-гігієнічними та мікробіологічними показниками молоко розділяють на 3 гатунки: екстра, вищий, перший.



**Рисунок – 3.10. Технологічна схема виробництва молока питного з какао з масовою часткою жиру 1,0 %**

Після проведення лабораторного контролю показників якості сировини і допоміжних матеріалів проводиться приймання по кількості.

### **3.5.2. Очищення молока-сировини.**

Молоко коров'яче очищується від механічних домішок. Для цього його пропускають через спеціальні фільтри і воно потрапляє в танк та автоматично зважується.

### **3.5.3. Охолодження**

Молок за потреби охолоджують на пластинчастих установках до температури +2... + 4 °С. За потреби молоко тимчасово зберігають для цього його перекачують у спеціальні резервуари.

### **3.5.4. Нормалізація молока**

Наступним етапом виробництва є нормалізація молока за якісними показниками. Нормалізують з метою встановлення правильного відношення між масовою часткою жиру та білку в суміші. Проводять цей процес за допомогою сепаратора та нормалізатора. Нормалізацію проводять наступним чином: частину незбираного молока сепарують, при цьому одержують знежирене молоко та вершки, а потім несепароване молоко, що залишилось змішують із знежиреним молоком або вешками, регулюючи масову частку жиру. У даній роботі передбачається виготовлення питного молока з какао з масовою часткою жиру 1,0 %.

### **3.5.5. Гомогенізація нормалізованої суміші**

Для поліпшення смаку і консистенції рекомендується нормалізовану суміш гомогенізувати на гомогенізаторі, в результаті чого відбувається подрібнення жирових кульок на такі, які вже не відстоюються.

### **3.5.6. Внесення какао-порошку**

Какао-порошок вносять у вигляді сиропу, приготовленого наступним чином. До необхідної кількості просіяного какао-порошку додають рівну по масі кількість цукру-піску (1:1), ретельно перемішуючи їх до однорідного розподілення какао й цукру. До какао-цукрової суміші при постійному перемішуванні додають три вагові частини молока, підігрітого до температури

60-65 °С. Отриманий сироп пастеризують за температури 85-90 °С з витримкою 30 хв., фільтрують і вносять до загальної кількості нормалізованого молока. Попередньо у молоко, підігріте до температури 60-65 °С, вносять просіяний цукор за рецептурою з урахуванням кількості, що була витрачена на приготування сиропу какао.

### ***3.5.7. Пастеризація нормалізованої суміші***

Нормалізована суміш подається на пастеризацію при 72-76° С з витримкою 20 с і охолоджується до 4-6 °С. Нормалізована суміш через насос потрапляє у пластинчастий теплообмінник, де пастеризується за температури 74-76 °С і витримується протягом 15 – 20 с або 85 °С без витримування, або 65 °С з витримуванням 30 хв. і охолоджується до +4 °С та спрямовується на розливання і фасування.

### ***3.5.8. Охолодження пастеризованого молока***

Пастеризоване молоко охолоджують до температури +2... +4 °С та спрямовується на розливання і фасування.

### ***3.5.9. Фасування молока питного***

Пастеризоване молоко розливають у тару разового використання - паперові або поліетиленові пакети з використанням спеціальних автоматів.

### ***3.5.10. Зберігання готового продукту***

Готовий молочний продукт – молоко питне з какао до реалізації зберігають за температури +4±2 °С. У пакетах з поліетиленові плівки не більше 3 доби, а у пакетах з комбінованого матеріалу, пляшках з полімерних матеріалів не більше ніж 7 днів.

У додатках наведено апаратурно-технологічну схему, план цеху та графік технологічного процесу з виробництва молока питного.

## ВИСНОВКИ І ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. У молоці-сировині до пастеризації основну частину мікрофлори становили психротрофні та мезофільні мікроорганізми до 70 %, на частку молочнокислої мікробіоти припадало до 25 %, терmostійкі і спороутворюючі бактерії становили 4 % та 0,8 %, відповідно.

2. Температурний режим теплової обробки ( $t = 72\text{ }^{\circ}\text{C}$  експозиція 20 с) сприяв зменшенню мезофільних та психротрофних бактерій на 93,4 % за умови використання молока екстра гатунку та на 91,5 % за умови першого гатунку. В числовому виразі кількість мікробів у пастеризованому молоці становила  $5,8 \pm 0,3 \times 10^3$  КУО/мл та  $37,1 \pm 1,2 \times 10^3$  КУО/мл, тобто практично в 6,4 рази більша кількість бактерій залишається у питному молоці при використанні сировини нижчої якості.

3. За температурного режиму обробки ( $t = 91\text{ }^{\circ}\text{C}$  експозиція 20 с) ефективність пастеризації становила 98,1 % (при використанні молока екстра гатунку), а при використанні молока нижчої мікробіологічної якості, вона була 96,8 %. За цих умов кількість залишкової мікрофлори була в середньому  $1,6 \pm 0,1 \times 10^3$  КУО/мл та  $13,9 \pm 0,8 \times 10^3$  КУО/мл, тобто в 8,7 рази менша кількість бактерій в питному молоці виявляється за умови використання сировини кращої мікробіологічної якості.

4. Інтенсивність відмирання терmostійкої мікрофлори молока за режиму  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  з витримкою 20 с становила всього 15,2 % за використання молока сирого екстра гатунку та 4,2 % (першого). Пастеризація за режиму температури  $91\text{ }^{\circ}\text{C}$  протягом 20 с значно сильніше впливала на дану мікрофлору, оскільки ефективність її становила 52,9 % та 49,2 %. Тобто ефективність режиму пастеризації була в 3,5 та 11,7 рази, відповідно сильніша, порівнюючи з режимом за температури  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

5. Навіть за щадячого режиму пастеризації  $+72\text{ }^{\circ}\text{C}$  протягом 20 с молоко, яке містить залишкову мезофільну мікробіоту  $5,8 \pm 0,3 \times 10^3$  КУО/мл можна зберігати і реалізовувати за температури встановленої стандартом (+ 4



$\pm 2$  °С) протягом 7 діб без можливого перевищення допустимого нормативу  $1 \times 10^5$  КУО/мл. За кількості мікробіоти  $13,9 \pm 0,7 \times 10^3$  КУО/мл, зберігати молоко не можна довше три доби. У молоці питному після пастеризації за 91 °С протягом 20 с наявна залишкова мікрофлора знаходиться в межах норми протягом 10 – 7 діб.

Запропоновано у технології молока питного використовувати режим пастеризації 72 °С з витримкою 20 с для молочної сировини екстра гатунку і режим – 91 °С з витримкою 20 с для сировини першого гатунку.

## РОЗДІЛ 4

# ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

### 4.1. Санітарно-гігієнічні вимоги до умов праці

Санітарно-гігієнічні вимоги до умов праці під час виконання роботи повинні бути відповідно визначених нормативів: Мікроклімат приміщення характеризується температурою, вологістю та швидкістю руху повітря, інтенсивністю радіації, переважно в інфрачервоній та ультрафіолетовій областях спектру електромагнітних випромінювань повинен відповідати установленим нормам і параметрам. Параметри мікроклімату у приміщенні мають забезпечувати комфортне самопочуття організму. Параметри мікроклімату закритих приміщень унормовані за санітарні норми ДСН 3.3.6.042-99 [91].

Освітлення приміщень та робочих місць має бути забезпечене відповідно до встановлених вимог. Відносно вікна робоче місце розміщено так, що природне світло збоку, переважно з лівого та забезпечує коефіцієнт природної освітленості не нижче 1,5 %. Освітленість за штучного освітлення в площині робочої поверхні 300 – 500 Лк. Відношення яскравості робочих поверхонь 3:1, а яскравість робочих поверхонь і стін (іншого обладнання) – 5:1 [92].

*Дотримання вимог до рівнів шуму та вібрації.*

Шум часто є причиною зниження рівня працездатності, підвищення рівня загальної та професійної захворюваності, частоти виробничих травм. У разі тривалого систематичного впливу шуму може виникнути патологія з переважним ураженням слуху, центральної нервової і серцево-судинної систем. Мають дотримуватись допустимі рівні звукового тиску в октавних смугах частот, еквівалентні рівні звуку на робочих місцях встановлені санітарними нормами виробничого шуму, ультразвуку та інфразвуку ДСН 3.3.6.037-99 [91].

Використовуються індивідуальні засоби і заходи захисту від шкідливого впливу виробничих чинників на здоров'я людини (засоби захисту органів дихання, органів зору, шкіри тощо). Облаштування приміщення для роботи з ПК, передбачена припливно-витяжна вентиляція та кондиціонування повітря. Надходження свіжого повітря регульоване, виходячи із відповідних нормативних [92].

Передбачений захист від шуму та вібрацій.

Застосування трьох головних напрямків зменшення впливу шуму на організм людини (зменшення рівня шуму у джерелі виникнення, застосування раціональних конструкцій, нових матеріалів і технологічних процесів; звукоізоляція устаткування за допомогою оздоблення стін, стелі, підлоги тощо; використання засобів індивідуального захисту). Рівні шуму та вібрації на робочих місцях осіб, що працюють з ПК, визначені відповідно до ДсанПіН 3.3.2-007-98 [91].

Дотримання заходів особистої гігієни на робочому місці (підтримання чистоти, миття рук тощо). Заходи особистої гігієни на робочому місці передбачають щоденне вологе прибирання, утримання у чистоті робочого місця, наявність на робочому місці тільки необхідних для роботи засобів. На робочому місці необхідно дотримуватись вимог правил внутрішнього розпорядку, зокрема, заборонено приймати їжу, пити, курити та інше.

Заходи безпеки під час експлуатації інших електричних приладів передбачають дотримання таких правил: постійно стежити за справним станом електромережі, розподільних щитків, вимикачів, штепсельних розеток, лампових патронів, а також мережевих кабелів живлення, за допомогою яких електроприлади під'єднують до електромережі; не підключати одночасно декілька потужних електропристроїв до однієї розетки, що може викликати надмірне нагрівання провідників, руйнування їхньої ізоляції, розплавлення і загоряння полімерних матеріалів; не залишати увімкненими електроприлади без нагляду; не допускати потрапляння всередину електроприладів крізь вентиляційні отвори рідин або металевих предметів, а також не закривати їх

та підтримувати в належній чистоті, щоб уникнути перегрівання та займання приладу; не ставити на електроприлади матеріали, які можуть під дією теплоти, що виділяється, загорітися (канцелярські товари, сувенірну продукцію тощо). Врахування можливих на робочому місці аварійних ситуацій техногенного характеру та загрози природного характеру, що можуть перерости у надзвичайні ситуації (пожежі, вибухи, аномальні гідрометеорологічні явища та медико-біологічні загрози) [91, 92].

Наявна схема евакуації з приміщення, зокрема, обґрунтований вибір шляхів евакуації, які забезпечують якнайшвидше і найбезпечніше виведення людей з небезпечних приміщень.

#### **4.2. Захист продуктів харчування від радіоактивного, хімічного і бактеріологічного (біологічного) забруднення**

У разі виникнення надзвичайних ситуацій у мирний час здійснюють заходи, які спрямовані на забезпечення захисту запасів харчової сировини, напівфабрикатів та готової харчової продукції від зараження їх радіоактивними, сильнодіючими та отруйними речовинами і бактеріальними засобами:

- будівництво складських і виробничих приміщень з повною герметизацією;
- розробка планів підготовки до здійснення простої герметизації тих складських та інших приміщень, де немає повної герметизації;
- випуск продуктів та напівфабрикатів у герметичній тарі;
- утримання в справному стані герметизованих транспортних засобів для транспортування продуктів і товарів [90].

Радіоактивному забрудненню під час радіаційної аварії можуть піддатись об'єкти харчової промисловості, на яких переробляються чи зберігаються різні харчові продукти. Зараження харчових підприємств може призвести до радіаційного ураження великої кількості людей. Ця обставина

вимагає від штабу і служб цивільного захисту підприємства організації надійного захисту продуктів харчування, сировини і води на всіх етапах їх технологічного перероблення і реалізації.

Забруднення харчових продуктів може бути поверхнєве (пряме) і структурне (біологічне). Поверхнєве забруднення може бути аерозольним і контактним. Поверхнєве забруднення відбувається у перший період після аварії. Воно виникає в результаті осідання радіонуклідів на поверхню продуктів харчування, харчової сировини, обладнання та інші предмети, якщо вони не мають герметичної упаковки або укриття [90].

Зараження отруйними і сильнодіючими отруйними речовинами довкілля, харчової сировини, готової продукції та води буде залежати від виду застосованої отрути, що потрапила в довкілля після аварії; її агрегатного стану (газ, пари, аерозоль); виду продуктів і умов їх зберігання. Небезпечним є зараження отруйними речовинами, які мають значну стійкість (зберігають тривалий час уражуючу дію і можуть проникати на певну глибину у різні предмети і продукти) [90].

Захист харчової сировини, напівфабрикатів, готової продукції, води на об'єктах харчової промисловості є одним з основних завдань цивільного захисту для переробних підприємств. Не зважаючи на існуючі розбіжності між уражаючою дією радіоактивних, хімічних речовин, бактеріальних засобів способи захисту продуктів харчування мають багато спільного. Вибір способу захисту визначається видом продукції, її кількістю і умовами зберігання. Для підготовки підприємства до захисту від радіоактивних, хімічних речовин, бактеріальних засобів на кожному із них розробляється план захисту, в якому передбачається проведення організаційних та інженерно-технічних заходів [90].

Заходи щодо захисту продуктів харчування можна об'єднати в такі групи: організаційні; інженерно-технічні; заходи захисту сировини харчової продукції за допомогою тари, пакування, захисних покриттів та санітарно-профілактичні.

*Організаційні заходи є загальними для харчових підприємств всіх галузей. Основними із них є: заміна обладнання більш досконалим, герметичним; підготовка до роботи лабораторій для аналізу продуктів харчування на забрудненість радіоактивними і хімічними отруйними речовинами; навчання формувань, виробничого персоналу заходам та засобам захисту харчових продуктів та сировини [90].*

*Інженерно-технічні заходи включають в себе: герметизацію виробничих і складських приміщень, встановлення фільтропоглиначів на вентиляційних системах; встановлення протипилевих фільтрів, кондиціонерів у виробничих приміщеннях; герметизацію технологічного обладнання.*

Отже, у разі виникнення надзвичайних ситуацій у мирний час необхідно здійснювати заходи, які спрямовані на забезпечення захисту запасів харчової сировини, напівфабрикатів та готової харчової продукції від зараження їх радіоактивними, сильнодіючими та отруйними речовинами і бактеріальними засобами.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Hantsis-Zacharov, E., & Halpern, M. (2007). Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Applied and environmental microbiology*, 73(22), 7162-7168.
2. Кухтин, М. Д. (2008). Мікробіологічні нормативи ефективності технологій одержання молока сирого екстра-гатунку. *Ветеринарна медицина України*, 2, 45-46.
3. Berhilevych, O. M., Kasianchuk, V. V., Lotskin, I. M., Garkavenko, T. O., & Shubin, P. A. (2017). Characteristics of antibiotic sensitivity of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy farms in Ukraine. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 4(8), 559-563.
4. Kukhtyn, M., Berhilevych, O., Kravcheniuk, K., Shynkaruk, O., Horyuk, Y., & Semaniuk, N. (2017). The influence of disinfectants on microbial biofilms of dairy equipment. *EUREKA: Life Sciences*, (5), 11-17.
5. Cousin, M. A. (1982). Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. *Journal of food Protection*, 45(2), 172-207.
6. Koka, R. A. M. A. R. A. T. H. N. A., & Weimer, B. C. (2001). Influence of growth conditions on heat-stable phospholipase activity in *Pseudomonas*. *Journal of Dairy Research*, 68(1), 109-116.
7. López-Fandiño, R., Olano, A., Corzo, N., & Ramos, M. (1993). Proteolysis during storage of UHT milk: differences between whole and skim milk. *Journal of Dairy Research*, 60(3), 339-347.
8. Craven, H. M., & Macauley, B. J. (1992). Microorganisms in pasteurised milk after refrigerated storage 1. Identification of types. *Australian Journal of Dairy Technology*, 47(1), 38.
9. 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.

10. Кухтин, М. Д., & Касянчук, В. В. (2010). Контамінація доїльного устаткування і молока сирого бактеріями роду *Pseudomonas* в залежності від ефективності санітарної обробки. *Вісник Сумського національного аграрного університету*, 8, 56-59.

11. Hantsis-Zacharov, E., & Halpern, M. (2007). Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Applied and environmental microbiology*, 73(22), 7162-7168.

12. Кухтин, М. Д., Покотило, О. С., Карпик, Г. В., Кравченко, Х. Ю., & Шинкарук, О. Ю. (2015). Зміни вільних жирних кислот та жирнокислотного складу молока під впливом психротрофних мікроорганізмів. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького*, (17, № 1 (4)), 50-55.

13. Munsch-Alatossava, P., & Alatossava, T. (2006). Phenotypic characterization of raw milk-associated psychrotrophic bacteria. *Microbiological Research*, 161(4), 334-346.

14. Sørhaug, T., & Stepaniak, L. (1997). Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 8(2), 35-41.

15. Dogan, B., & Boor, K. J. (2003). Genetic diversity and spoilage potentials among *Pseudomonas* spp. isolated from fluid milk products and dairy processing plants. *Applied and environmental microbiology*, 69(1), 130-138.

16. Gunasekera, T. S., Dorsch, M. R., Slade, M. B., & Veal, D. A. (2003). Specific detection of *Pseudomonas* spp. in milk by fluorescence in situ hybridization using ribosomal RNA directed probes. *Journal of Applied Microbiology*, 94(5), 936-945.

17. Kukhtyn, M., Berhilevych, O., Kravcheniuk, K., Shynkaruk, O., Horiuk, Y., & Semaniuk, N. (2017). Formation of biofilms on dairy equipment and the



influence of disinfectants on them. *Східно-європейський журнал передових технологій*, (5 (11)), 26-33.

18. Miambi, E., Guyot, J. P., & Ampe, F. (2003). Identification, isolation and quantification of representative bacteria from fermented cassava dough using an integrated approach of culture-dependent and culture-independent methods. *International journal of food microbiology*, 82(2), 111-120.

19. 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. *Eastern-European journal of Enterprise Technologies*, 2/11, 98, 14–21.

20. Delbès, C., Ali-Mandjee, L., & Montel, M. C. (2007). Monitoring bacterial communities in raw milk and cheese by culture-dependent and-independent 16S rRNA gene-based analyses. *Applied and environmental microbiology*, 73(6), 1882-1891.

21. Aquilanti, L., Dell'Aquila, L., Zannini, E., Zocchetti, A., & Clementi, F. (2006). Resident lactic acid bacteria in raw milk Canestrato Pugliese cheese. *Letters in Applied Microbiology*, 43(2), 161-167.

22. Quigley, L., O'Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Cotter, P. D. (2013). The complex microbiota of raw milk. *FEMS microbiology reviews*, 37(5), 664-698.

23. 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.

24. Лялик, А. Т., Покотило, О. С., Кухтин, М. Д., & Бейко, Л. А. (2020). Органолептичний і сенсорний аналіз сиркової пасти з лляною олією. *Технічні науки та технології*, (1 (19)), 287-295.

25. Касянчук, В., Бергілевич, О., Крижанівський, Я., & Кухтин, М. (2006). Організація ветеринарно-санітарного контролю виробництва молока

коров'ячого на фермі відповідно до вимог СОТ. *Ветеринарна медицина України*, 7, 38-40.

26. Лялик, А. Т., Покотило, О. С., Кухтин, М. Д., & Добровольська, С. Я. (2020). Зміна органолептичних показників сиркової пасти з лляною олією за різних умов зберігання. *Вестник Херсонского національного технічного університета*, (1-1 (72)), 109-116.

27. Бергілевич, О. М., Касянчук, В. В., Власенко, І. Г., & Кухтін, М. Д. (2010). Мікробіологія молока і молочних продуктів. *Суми: Університетська книга*.

28. Kukhtyn, M., Vichko, O., Kravets, O., Karpyk, H., Shved, O., & Novikov, V. (2018). Biochemical and microbiological changes during fermentation and storage of a fermented milk product prepared with Tibetan Kefir Starter. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 68(4).

29. Wouters, J. T., Ayad, E. H., Hugenholtz, J., & Smit, G. (2002). Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 12(2-3), 91-109.

30. Гігієнічне і технологічне нормування психротрофної мікрофлори молока / М. Д. Кухтин, О. С. Покотило, Ю. Б. Перкій, Ю. В. Горюк // Наукові праці НУХТ. – 2015. – Т. 21, № 3. – С. 38–44.

31. Hantsis-Zacharov, E., & Halpern, M. (2007). *Chryseobacterium haifense* sp. nov., a psychrotolerant bacterium isolated from raw milk. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 57(10), 2344-2348.

32. Horiuk, Yu. V., Kukhtyn, M. D., Vergeles, K. M., Kovalenko, V. L., Verkholiuk, M. M., Peleno, R. A., and Horiuk V.V. (2018). Characteristics of Enterococci Isolated from Raw Milk and Hand-Made Cottage Cheese in Ukraine. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 9(2), 1128–1123.

33. Lialyk, A. T., Pokotylo, A. S., & Kukhtyn, M. D. (2019). Microbiological parameters of cheese paste with the content of flaxseed oil at different storage

temperatures. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Food Technologies*, 21(91), 124-129.

34. Main Microbiological and Biological Properties of Microbial Associations of “*Lactomyces tibeticus*”/ M Kukhtyn, O Vichko, O Berhilevych, Y Horyuk, and V Horyuk // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. - Volume 7, Issue 6, 2016 (November - December). - P.1266-1272

35. Vacheyrou, M., Normand, A. C., Guyot, P., Cassagne, C., Piarroux, R., & Bouton, Y. (2011). Cultivable microbial communities in raw cow milk and potential transfers from stables of sixteen French farms. *International journal of food microbiology*, 146(3), 253-262.

36. Quigley, L., O'Sullivan, O., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Cotter, P. D. (2011). Molecular approaches to analysing the microbial composition of raw milk and raw milk cheese. *International journal of food microbiology*, 150(2-3), 81-94.

37. <http://eurex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:338:0001:0026:EN:PDF>; <http://www.inab.ie/>

38. Loman, N. J., Constantinidou, C., Chan, J. Z., Halachev, M., Sergeant, M., Penn, C. W., ... & Pallen, M. J. (2012). High-throughput bacterial genome sequencing: an embarrassment of choice, a world of opportunity. *Nature Reviews Microbiology*, 10(9), 599-606.

39. Masoud, W., Vogensen, F. K., Lillevang, S., Al-Soud, W. A., Sørensen, S. J., & Jakobsen, M. (2012). The fate of indigenous microbiota, starter cultures, *Escherichia coli*, *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus* in Danish raw milk and cheeses determined by pyrosequencing and quantitative real time (qRT)-PCR. *International journal of food microbiology*, 153(1-2), 192-202.

40. Tolle A (1980) The microflora of the udder. *Bull Int Dairy Fed* 120: pp. 4.

41. Кухтин, М. Д. (2011). *Теоретичне обґрунтування ветеринарно-санітарних нормативів і розроблення системи контролю виробництва молока коров'ячого незбираного охолодженого* (Doctoral dissertation, ступеня докт.

вет. наук: спец. 16.00. 06 “Гігієна тварин та ветеринарна санітарія”/МД Кухтин.–Львів, 2011.–40,[1] с).

42. Verdier-Metz, I., Gagne, G., Bornes, S., Monsallier, F., Veisseire, P., Delbès-Paus, C., & Montel, M. C. (2012). Cow teat skin, a potential source of diverse microbial populations for cheese production. *Applied and environmental microbiology*, 78(2), 326-333.

43. Monsallier, F., Verdier-Metz, I., Agabriel, C., Martin, B., & Montel, M. C. (2012). Variability of microbial teat skin flora in relation to farming practices and individual dairy cow characteristics. *Dairy science & technology*, 92(3), 265-278.

44. Fricker, M., Skånseng, B., Rudi, K., Stessl, B., & Ehling-Schulz, M. (2011). Shift from farm to dairy tank milk microbiota revealed by a polyphasic approach is independent from geographical origin. *International journal of food microbiology*, 145, S24-S30.

45. Michel, V., Hauwuy, A., & Chamba, J. (2006). Raw milk microbial composition: differences in links with microbial practices. *Rencontres Rech Rumin*, 13, 309-312.

46. Hagi, T., Kobayashi, M., & Nomura, M. (2010). Molecular-based analysis of changes in indigenous milk microflora during the grazing period. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 1001281831-1001281831.

47. 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, Iss. 1), 12-16.

48. Bonizzi, I., Buffoni, J. N., Feligini, M., & Enne, G. (2009). Investigating the relationship between raw milk bacterial composition, as described by intergenic transcribed spacer-PCR fingerprinting, and pasture altitude. *Journal of applied microbiology*, 107(4), 1319-1329.

49. 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 Жицького, 10(3-3 (38)), 229-237.

50. Mallet, A., Guéguen, M., Kauffmann, F., Chesneau, C., Sesboué, A., & Desmasures, N. (2012). Quantitative and qualitative microbial analysis of raw milk reveals substantial diversity influenced by herd management practices. *International Dairy Journal*, 27(1-2), 13-21.

51. (<http://www.dairyco.org.uk/market-information/supply-production/milk-production/world-milk-production/>)

52. Raats, D., Offek, M., Minz, D., & Halpern, M. (2011). Molecular analysis of bacterial communities in raw cow milk and the impact of refrigeration on its structure and dynamics. *Food microbiology*, 28(3), 465-471.

53. Quigley, L., McCarthy, R., O'Sullivan, O., Beresford, T. P., Fitzgerald, G. F., Ross, R. P., ... & Cotter, P. D. (2013). The microbial content of raw and pasteurized cow milk as determined by molecular approaches. *Journal of dairy science*, 96(8), 4928-4937.

54. Hugenholtz, J., & Starrenburg, M. J. (1992). Diacetyl production by different strains of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* and *Leuconostoc* spp. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 38(1), 17-22.

55. Gaya, P., Babín, M., Medina, M., & Nunez, M. (1999). Diversity among lactococci isolated from ewes' raw milk and cheese. *Journal of Applied Microbiology*, 87(6), 849-855.

56. Smit, G., Smit, B. A., & Engels, W. J. (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS microbiology reviews*, 29(3), 591-610.

57. Bayjanov, J. R., Wels, M., Starrenburg, M., van Hylckama Vlieg, J. E., Siezen, R. J., & Molenaar, D. (2009). PanCGH: a genotype-calling algorithm for pangenome CGH data. *Bioinformatics*, 25(3), 309-314.

58. Singh, B. P., Gupta, V. K., & Passari, A. K. (Eds.). (2018). *Actinobacteria: Diversity and Biotechnological Applications: New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier.

59. Bolotin, A., Wincker, P., Mauger, S., Jaillon, O., Malarme, K., Weissenbach, J., ... & Sorokin, A. (2001). The complete genome sequence of the lactic acid bacterium *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* IL1403. *Genome research*, *11*(5), 731-753.
60. Wegmann, U., O'Connell-Motherway, M., Zomer, A., Buist, G., Shearman, C., Canchaya, C., ... & Kok, J. (2007). Complete genome sequence of the prototype lactic acid bacterium *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* MG1363. *Journal of bacteriology*, *189*(8), 3256-3270.
61. Holler, B. J., & Steele, J. L. (1995). Characterization of lactococci other than *Lactococcus lactis* for possible use as starter cultures. *International Dairy Journal*, *5*(3), 275-289.
62. Kimoto-Nira, H., Aoki, R., Mizumachi, K., Sasaki, K., Naito, H., Sawada, T., & Suzuki, C. (2012). Interaction between *Lactococcus lactis* and *Lactococcus raffinolactis* during growth in milk: development of a new starter culture. *Journal of dairy science*, *95*(4), 2176-2185.
63. Meslier, V., Loux, V., & Renault, P. (2012). Genome sequence of *Leuconostoc pseudomesenteroides* strain 4882, isolated from a dairy starter culture.
64. Vendrell, D., Balcázar, J. L., Ruiz-Zarzuela, I., De Blas, I., Gironés, O., & Múzquiz, J. L. (2006). *Lactococcus garvieae* in fish: a review. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, *29*(4), 177-198.
65. Fortina, M. G., Ricci, G., Foschino, R., Picozzi, C., Dolci, P., Zeppa, G., ... & Manachini, P. L. (2007). Phenotypic typing, technological properties and safety aspects of *Lactococcus garvieae* strains from dairy environments. *Journal of Applied Microbiology*, *103*(2), 445-453.
66. Ferrario, C., Ricci, G., Borgo, F., Rollando, A., & Fortina, M. G. (2012). Genetic investigation within *Lactococcus garvieae* revealed two genomic lineages. *FEMS microbiology letters*, *332*(2), 153-161.
67. Giraffa, G., De Vecchi, P., & Rossetti, L. (1998). Note: identification of *Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus* and subspecies *lactis* dairy isolates

by amplified rDNA restriction analysis. *Journal of Applied Microbiology*, 85(5), 918-918.

68. Morandi, S., Brasca, M., & Lodi, R. (2011). Technological, phenotypic and genotypic characterisation of wild lactic acid bacteria involved in the production of Bitto PDO Italian cheese. *Dairy Science & Technology*, 91(3), 341-359.

69. Herve-Jimenez, L., Guillouard, I., Guedon, E., Boudebbouze, S., Hols, P., Monnet, V., ... & Rul, F. (2009). Postgenomic analysis of *Streptococcus thermophilus* cocultivated in milk with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*: involvement of nitrogen, purine, and iron metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(7), 2062-2073.

70. Van De Guchte, M., Penaud, S., Grimaldi, C., Barbe, V., Bryson, K., Nicolas, P., ... & Maguin, E. (2006). The complete genome sequence of *Lactobacillus bulgaricus* reveals extensive and ongoing reductive evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(24), 9274-9279.

71. Santarelli, M., Gatti, M., Lazzi, C., Bernini, V., Zapparoli, G. A., & Neviani, E. (2008). Whey starter for Grana Padano cheese: effect of technological parameters on viability and composition of the microbial community. *Journal of Dairy Science*, 91(3), 883-891.

72. Ott, A., Germond, J. E., & Chaintreau, A. (2000). Origin of acetaldehyde during milk fermentation using <sup>13</sup>C-labeled precursors. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(5), 1512-1517.

73. Pacini, F., Cariolato, D., Andrighetto, C., & Lombardi, A. (2006). Occurrence of *Streptococcus macedonicus* in Italian cheeses. *FEMS microbiology letters*, 261(1), 69-73.

74. Tsakalidou, E., & Odos, I. (2012, April). Microbiota of goat's milk and goat's milk cheese. In *First Asia Dairy Goat Conference* (Vol. 9, p. 39).

75. Cousin, F. J., Mater, D. D., Foligné, B., & Jan, G. (2011). Dairy propionibacteria as human probiotics: a review of recent evidence. *Dairy science & technology*, 91(1), 1-26.

76. Hemme, D., & Foucaud-Scheunemann, C. (2004). Leuconostoc, characteristics, use in dairy technology and prospects in functional foods. *International Dairy Journal*, 14(6), 467-494.

77. Cardamone, L., Quiberoni, A., Mercanti, D. J., Fornasari, M. E., Reinheimer, J. A., & Guglielmotti, D. M. (2011). Adventitious dairy Leuconostoc strains with interesting technological and biological properties useful for adjunct starters. *Dairy science & technology*, 91(4), 457-470.

78. Bhardwaj, A., Kapila, S., Mani, J., & Malik, R. K. (2009). Comparison of susceptibility to opsonic killing by in vitro human immune response of Enterococcus strains isolated from dairy products, clinical samples and probiotic preparation. *International journal of food microbiology*, 128(3), 513-515.

79. FRANCIOSI, E., SETTANNI, L., CAVAZZA, A., & POZNANSKI, E. (2009). Presence of enterococci in raw cow's milk and "Puzzone di Moena" cheese. *Journal of food processing and preservation*, 33(2), 204-217.

80. Magni, C., Espeche, C., Repizo, G. D., Saavedra, L., Suárez, C. A., Blancato, V. S., ... & Sesma, F. (2012). Draft genome sequence of *Enterococcus mundtii* CRL1656.

81. Martin, A., & Beutin, L. (2011). Characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from meat and milk products of different origins and association with food producing animals as main contamination sources. *International journal of food microbiology*, 146(1), 99-104.

82. Fromm, H. I., & Boor, K. J. (2004). Characterization of pasteurized fluid milk shelf-life attributes. *Journal of food science*, 69(8), M207-M214.

83. Grant, I. R., Hitchings, E. I., McCartney, A., Ferguson, F., & Rowe, M. T. (2002). Effect of commercial-scale high-temperature, short-time pasteurization on the viability of *Mycobacterium paratuberculosis* in naturally infected cows' milk. *Applied and environmental microbiology*, 68(2), 602-607.

84. Ranieri, M. L., Huck, J. R., Sonnen, M., Barbano, D. M., & Boor, K. J. (2009). High temperature, short time pasteurization temperatures inversely affect



bacterial numbers during refrigerated storage of pasteurized fluid milk. *Journal of dairy science*, 92(10), 4823-4832.

85. Paszyńska-Wesołowska, I., & Bartoszcze, M. (2009). Bacteria in the state of VBNC-a threat to human health. *Medycyna Weterynaryjna*, 65(4), 228-231.

86. Driehuis, F. (2013). Silage and the safety and quality of dairy foods: a review. *Agricultural and Food Science*, 22(1), 16-34.

87. Cremonesi, P., Vanoni, L., Silvetti, T., Morandi, S., & Brasca, M. (2012). Identification of *Clostridium beijerinckii*, *Cl. butyricum*, *Cl. sporogenes*, *Cl. tyrobutyricum* isolated from silage, raw milk and hard cheese by a multiplex PCR assay. *Journal of Dairy Research*, 79(3), 318-323.

88. Cocolin, L., Innocente, N., Biasutti, M., & Comi, G. (2004). The late blowing in cheese: a new molecular approach based on PCR and DGGE to study the microbial ecology of the alteration process. *International journal of food microbiology*, 90(1), 83-91.

89. Driehuis, F. (2013). Silage and the safety and quality of dairy foods: a review. *Agricultural and Food Science*, 22(1), 16-34.

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

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

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

# ДОДАТКИ

## Додаток А

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

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

Тези доповідей  
22 – 23 вересня 2022 р.

Тернопіль

УДК 001 + 664  
С 76

## ПРОГРАМНИЙ КОМІТЕТ

### *Голова*

Марущак П. – д.т.н., професор, проректор з наукової роботи ТНТУ імені І.Пулюя

### *Заступник голови*

Покотило О. – д.б.н., професор, завідувач кафедри харчової біотехнології та хімії

### *Наукові секретарі*

**Х. Кравченко** – к.т.н., асистент кафедри харчової біотехнології і хімії

### *Члени програмного комітету*

Бринза Ян	Словаччина
Вавренчик М.	Польща
Арсеньєва Л.	Україна
Вітенько Т.	Україна
Гавриляк В.	Україна
Ковальчук В.	Україна
Крижовачук О.	Україна
Кухтин М.	Україна
Лещук Р.	Україна
Митник М.	Україна
Патика М.	Україна
Полтавченко Т.	Україна
Соколюк В.	Україна
Ткаченко О.	Україна
Шерстюк Р.	Україна
Цісарик О.	Україна
Юкало В.	Україна

С 76 Стан і перспективи харчової науки та промисловості: тези доповідей VI Міжнародної науково-технічної конференції. (Тернопіль 22–23 вересня 2022 року) / М-во освіти і науки України, Терн. націон. техн. ун-т ім. І. Пулюя [та ін.]. – Тернопіль: ФОП Паляниця В. А., 2022. – 67 с.

УДК 001 + 664

ISBN 978-617-7875-41-2

ISBN 978-617-7875-41-2

© Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, 2022  
© ФОП Паляниця В. А., 2022

УДК 664

Оксана Базар, Микола Кухтин

Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, Україна

### **ЕФЕКТИВНІСТЬ ПАСТЕРИЗАЦІЇ МОЛОКА-СИРОВИНИ З РІЗНИМ МІКРОБНИМ ЗАБРУДНЕННЯМ**

Oksana Bazar, Mykola Kukhtyn

### **EFFICIENCY OF PASTEURIZATION OF RAW MILK WITH DIFFERENT MICROBIAL CONTAMINATION**

Питне молоко коров'яче – це продукт, який відноситься до швидкопсувних молочних продуктів через наявність в його вмісті залишкової мікрофлори. Тому питному молоку важко конкурувати з різними кисломолочними напоями, у яких термін зберігання значно триваліший. Один із способів подовження терміну зберігання та збереження товарності і якості питного молока є зменшення мікробного забруднення [1], яке можна досягнути двома способами: 1) приймати на переробку молоко-сировину високої гігієнічної якості (з мінімальним мікробним обсягом) [2]; 2) застосовувати високі температури теплової обробки молока-сировини з подальшим асептичним пакуванням. Водночас застосування високих температур пастеризації може вплинути на смакові властивості питного молока, оскільки виникає реакція Майяра або карамелізація і збільшується вміст сполук сірки в готовому продукті. Тому у виробничих умовах стандартної пастеризації немає, а знаходять компроміс між температурним режимом пастеризації та збереженням поживних властивостей молока та його смакових властивостей. При цьому визначають мікробіологічну стійкість молока питного до зберігання і таким чином встановлюють реально можливий термін придатності.

Метою нашої роботи було визначити як впливає гігієнічна якість молока-сировини на вміст декількох груп мікрофлори у молоці питному після застосування пастеризації.

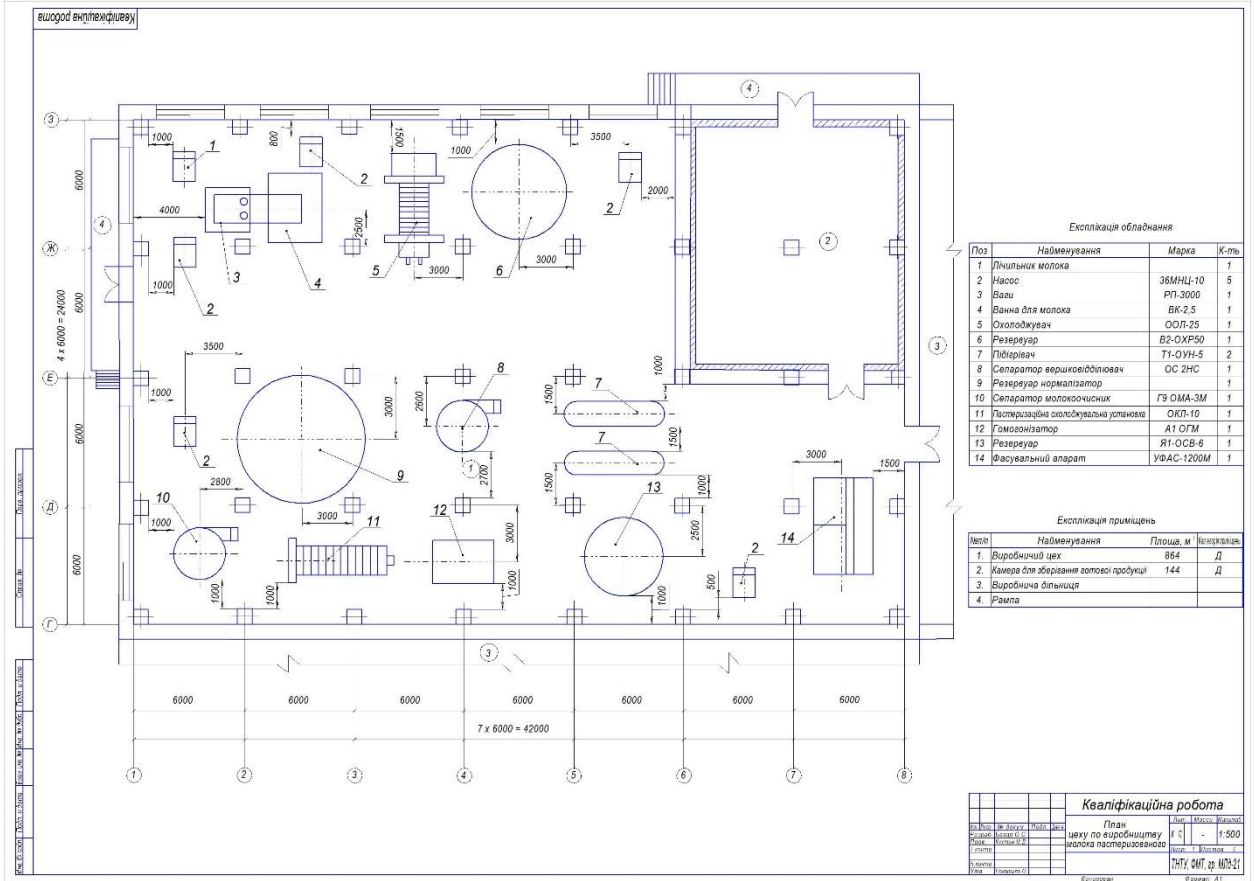
Матеріалом для дослідження слугувало молоко-сировина гатунку екстра та перший, яке піддавалося пастеризації (лагідний режим 70-72 °С протягом 15 с) та жорсткий (вище 90 °С – 15 с). У молоці визначали залишкову мікрофлору класичними мікробіологічними методами шляхом посіву на живильні середовища, інкубування в термостаті та підрахування кількості утворених колоній (КУО) в 1 мл продукту.

Встановлено, що за умови першого режиму пастеризації молока екстра гатунку ефективність її становила, в середньому 93 %, а першого гатунку – 91 %. За умови другого режиму пастеризації ефективність її зросла до 98,5 % та 96,9 % відповідно. При цьому молоко пастеризоване мало найменшу мікробіологічну стійкість до зберігання за за використання режиму пастеризації 70-72 °С протягом 15 с і сировини першого гатунку – до трьох діб за температури +4 °С. За всіх інших режимів молоко питне можна було зберігати від 7 до 10 діб без порушення вимог стандарту.

#### **Література**

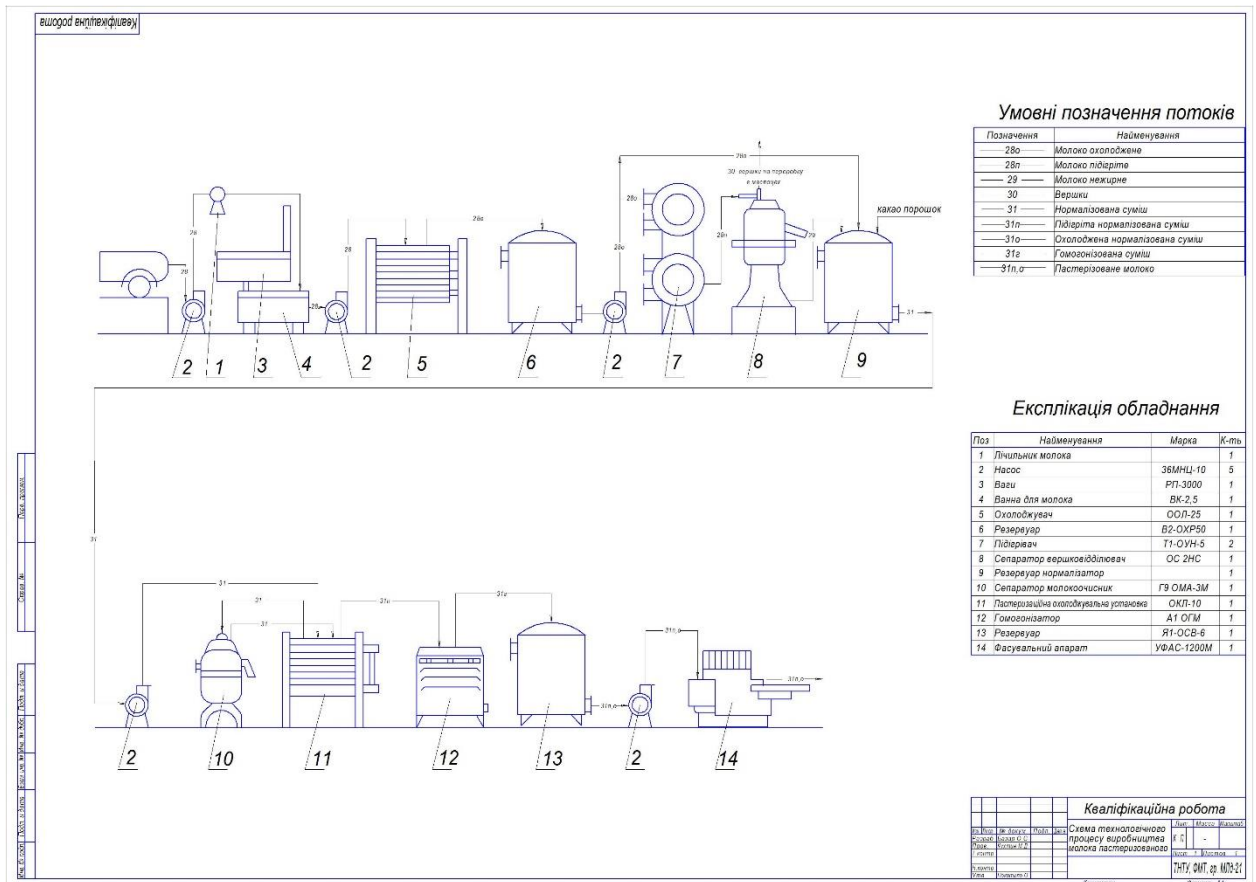
1. Касянчук, В., Бергілевич, О., Крижанівський, Я., & Кухтин, М. (2006). Організація ветеринарно-санітарного контролю виробництва молока коров'ячого на фермі відповідно до вимог СОР. *Ветеринарна медицина України*, 7, 38-40.
2. Кухтин, М. Д. (2008). Динаміка мікробіологічного та біохімічного процесу в молоці сирому при зберіганні за різних температур. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені СЗ Гжицького*, 10(3-3 (38)), 229-237.

## Додаток Б



**Рис. Д.1. План цеху з виробництва молока питного**

## Додаток В



**Рис. Д.2. Технологічна схема з виробництва молока питного**



## Додаток Д

Кваліфікаційна робота

Об'єкт контролю	Показник контролю	Значення показника	Періодичність контролю	Місце відбору проб	Метод контролю
Сире молоко	Відбір проб, л	1,0	Кожна партія	З кожних фляг або цистерн	ДСТУ 4834
	Органолептичні показники	1,0			ДСТУ 4834
	Температура, С	+10			ДСТУ 4834
	Густина, кг/м <sup>3</sup>	1027,0			ДСТУ 7057
	Мех забруднення	I, II			ДСТУ 4834
	Масова частка сухих речовин, %	11,8 - 10,6			ДСТУ 4834
	Масова частка жиру, %	1 - 6			ДСТУ 7057
	Масова частка білку, %	3,0			ДСТУ 7057
Кислотність, Т	16 - 20	ДСТУ 7057			
Редуктазна проба		ДСТУ 7357			
Нормалізована суміш	Густина, кг/м <sup>3</sup>	1027,0	Кожна партія	3 танку	ДСТУ 7057
	Кислотність, Т	21,0			ДСТУ 7057
	Масова частка жиру, %	1,0 - 3,2			ДСТУ 7057
	КМАФАНМ, тис. КУО/см <sup>3</sup>	1x10 <sup>5</sup>			ДСТУ 7357
	БГКП в см <sup>3</sup>	0,1			ДСТУ 7357
Суміш після пастеризації	КМАФАНМ, тис. КУО/см <sup>3</sup>	1x10 <sup>5</sup>	Кожна партія	3 пастеризаційної установки	ДСТУ 7357
	БГКП в см <sup>3</sup>	0,1			ДСТУ 7357
	Проба на пероксидазу	-			ДСТУ 7380
Молоко після пастеризації до фасування	КМАФАНМ, тис. КУО/см <sup>3</sup>	1x10 <sup>5</sup>	Один раз в декаду	3 танку	ДСТУ 7357
	БГКП в см <sup>3</sup>	0,1			ДСТУ 7357
Молоко після фасування	Густина, кг/м <sup>3</sup>	1027,0	Кожна партія	3 тари	ДСТУ 7057
	Кислотність, Т	21,0			ДСТУ 7057
	Ступінь чистоти	I			ДСТУ 7057
	Масова частка жиру, %	1,0 - 3,2			ДСТУ 7057
	Масова частка віт. С, %	0,01			ГОСТ 2661
	Масова частка йодоказеїну, %	0,5			ГОСТ 2661
	Температура, С	6,0			ГОСТ 26754
	КМАФАНМ, тис. КУО/см <sup>3</sup>	1x10 <sup>5</sup>			ДСТУ 7357
	БГКП в см <sup>3</sup>	0,1			ДСТУ 7357
Патогенні мікроорганізми	Не допускається	ДСТУ 7357			

 Дата: \_\_\_\_\_  
 Стр. №: \_\_\_\_\_

 Підпис: \_\_\_\_\_  
 Підпис: \_\_\_\_\_  
 Підпис: \_\_\_\_\_

Кваліфікаційна робота					
№	Дата	№ докум.	Підп.	Дат.	Стежа спеціального / мікробіологічного контролю виробництва молока пастеризованого
Розроб.	Визир О.С.				К П
Ріше.	Корольов В.Д.				Підпис: _____
Інженер					Підпис: _____
Інженер					Підпис: _____
Інж.					Підпис: _____
Інж.					Підпис: _____
					ТНТУ, ФАТ, гр. МЛП-21
					Формат: А1

**Рис. Д.4. Графік технологічного процесу виробництва молока питного**