



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

Кухтин М.Д.

(підпис)

(прізвище та ініціали)

« »

2023 р.

**З А В Д А Н Н Я  
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ**

на здобуття освітнього ступеня Магістр  
(назва освітнього ступеня)

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

студенту Карабін Надія Ігорівна  
(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Дослідження бактеріофагів у цеху з виробництва  
кисломолочного сиру з удосконаленням  
технологічного процесу ферментації

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

Затверджені наказом ректора від « 13 » 10 2023 року № 4/7-973

2. Термін подання студентом завершеної роботи грудень 2023 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)

Провести аналітичний огляд літератури циркуляції літичних бактеріофагів щодо  
культур заквасок на молокопереробних підприємствах;

Здійснити моніторинг бактеріофагів молочнокислих мікроорганізмів на підприємствах  
з виробництва кисломолочного сиру;

Визначити контамінацію бактеріофагами сквашувальної суміші, готового продукту під  
час виробництва кисломолочного сиру;

Провести моделювання процесу вплив різної кількості бактеріофагів на технологічний  
процес виробництва кисломолочного сиру;

Розробити технологічну та апартурно-технологічну процесу схему та графік  
організації

виробничого процесу під час виробництва кисломолочного сиру.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень, слайдів)  
рисунки, таблиці, 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 етапів роботи	Примітка
1.	Аналітичний огляд та патентний пошук інформації відповідно до теми магістерської роботи	31.01.23 р. – 25.05.23 р.	
2.	Складання схеми досліджень	19.06.23 р. – 26.06.23 р.	
3.	Опрацювання методики досліджень	03.07.23 р. – 31.07.23 р.	
4.	Виконання експериментальних досліджень (Частина I)	01.08.23 р. – 31.08.23 р.	
5.	Завершення експериментальних досліджень (Частина II)	01.09.23 р. – 18.09.23 р.	
6.	Збір інформації до виконання розділу та «Безпека в надзвичайних ситуаціях»	19.09.23 р. – 09.10.23 р.	
7.	Закінчення написання розділів	10.10.23 р – 27.11.23 р.	
8.	Подання магістерської роботи до захисту	04.12.23 р	

Студент

\_\_\_\_\_ (підпис)

Карабін Н.І.

\_\_\_\_\_ (прізвище та ініціали)

Керівник роботи

\_\_\_\_\_ (підпис)

Кухтин М. Д.

\_\_\_\_\_ (прізвище та ініціали)

## ЗМІСТ

	Реферат	6
	Вступ	7
1	Огляд літератури	10
1.1	Використання сирів у харчуванні населення та вплив компонентів молочних продуктів на здоров'я	10
1.2	Чинники, які впливають на процеси ферментації молочної сировини	14
1.2.1	Ефективність заквасок під час ферментації молочної сировини	15
1.3	Контамінація фагами молочного середовища	17
1.4	Виявлення та кількісне визначення бактеріофагів молочнокислих бактерій на молокопереробних підприємствах	23
1.5	Стратегії контролю бактеріофагів заквасочних стартових бактерій на молочних заводах	26
2	Матеріали і методи досліджень	31
2.1	Етапи проведення досліджень	31
2.2	Методи досліджень	33
3	Результати дослідження та їх обговорення	34
3.1	Актуальність проведення моніторингових досліджень циркуляції фагів на молокопереробних підприємствах з виробництва кисломолочних продуктів	34
3.2	Моніторинг бактеріофагів молочнокислих мікроорганізмів на підприємствах з виробництва кисломолочного сиру	36
3.3	Визначення контамінації бактеріофагами сквашувальної суміші, готового продукту під час виробництва кисломолочного сиру	43
3.4	Моделювання процесу вплив різної кількості бактеріофагів на технологічний процес виробництва кисломолочного сиру	45

	Висновки і пропозиції виробництву	55
4	Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях	56
4.1	Техніка безпеки для недопущення травматизму на підприємствах харчової промисловості	56
4.2	Розробка заходів щодо захисту продуктів харчування від радіоактивного, хімічного і біологічного забруднення за допомогою тари	59
	Список літератури	62
	Додатки	72

## РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота: 77 с., 7 рис., 5 табл., 91 джерел.

КИСЛОМОЛОЧНИЙ СИР, БАКТЕРІАЛЬНА ЗАКВАСКА,  
БАКТЕРІОФАГИ, МОЛОЧНОКИСЛІ БАКТЕРІЇ, ТЕХНОЛОГІЯ.

Об'єкт дослідження: закваски для виробництва кисломолочного сиру, літичні бактеріофаги, кисломолочний сир, технологія виробництва сиру.

Мета роботи – дослідити циркуляцію літичних фагів молочнокислих бактерій за технології виробництва кисломолочного сиру та розробити профілактичні заходи під час виготовлення продукту.

Методи дослідження: аналітичні (огляд наукових публікацій про вплив фагів на молочнокислий процес у технології ферментації молочної сировини); мікробіологічні (моніторинг фагів на різних молокопереробних заводах) фізико-хімічні (динаміка титрованої кислотності за фагової інфекції суміші до заквашування).

Встановлено, що кількість позитивних проб молока сировини з вмістом бактеріофагів, які лізували мікробні культури заквасок становила від 50 до 80 %. Визначено, що у цеху з виробництва кисломолочного сиру технологічне обладнання приблизно в 15 – 25 % контаміноване літичними бактеріофагами, які лізують заквасочні культури. Водночас, вміст бактеріофагів на промисловому обладнанні не перевищувала кількість у  $10^2$  БУО/мл змиву, що вважається задовільним для виробничого процесу у кисломолочному цеху. Під час моделювання процесу вплив різної кількості бактеріофагів на технологічний процес виробництва кисломолочного сиру встановлено, що у випадку зараження молочної суміші до заквашування літичним бактеріофагом у кількості більше  $10^2$  БУО/мл тривалість процесу виробництва суттєво зросте, або повністю зупиниться ферментація за участі молочнокислих бактерій. Запропоновано проводити обов'язковий моніторинг циркуляції фагів у цеху виробництва кисломолочного сиру 1 раз в квартал та у випадку сповільнення ферментації молока проводити ротацію заквасок.

## Вступ

**Актуальність теми.** Велика кількість харчових продуктів виробляється промисловим способом шляхом великомасштабної бактеріальної ферментації різних органічних субстратів. Оскільки величезна кількість бактерій щодня культивується у великих ферментаційних чанах, ризик того, що забруднення бактеріофагами швидко призведе до зупинки бродіння та спричинить економічний спад, є серйозною загрозою для цих галузей.

Бактеріофаги, які зазвичай називають «фагами», – це віруси, які інфікують бактерії, і вони присутні в кожній екосистемі, де існують бактерії. Фаги є найпоширенішими та всюдисущими біологічними об'єктами на землі, чисельність яких перевищує кількість бактерій приблизно в 10 разів [28, 82, 84, 85]. Фаги можуть мати різну морфологію, але всі відомі фаги, що інфікують молочнокислі бактерії, належать до порядку Caudovirales, геном яких складається з дволанцюгової ДНК, упакованої в головку (капсид), з'єднану з хвостом [28, 70]. Реплікація фагів відбувається шляхом інфікування бактеріальних клітин та подальшої зупинки метаболізму свого господаря, реплікації та збірки фагових частинок і вивільнення віріонів після лізису бактеріальної клітини, даний процес називають як літичний цикл [28, 70].

Фаги десятиліттями були визнані «ворогами» в різних галузях харчової промисловості, де проходить процес ферментації. Однак найбільші проблеми, пов'язані з наявністю і розвитком фагів, описані в молочній промисловості, де вони інфікували молочнокислі бактерії заквасок для виробництва сирів та кисломолочних продуктів [66 – 69]. Нормальний перебіг технологічного процесу з виробництва сиру, йогурту та інших кисломолочних продуктів залежить від накопичення молочної кислоти, яке проходить внаслідок розвитку культур молочнокислих бактерій, доданих у молоко після його пастеризації. Основною ознакою фагової інфекції в

процесі бродіння молока є зниження активності закваски, що в гірших випадках призводить до повної зупинки молочнокислого процесу або зменшення накопичення молочної кислоти. За такого розвитку бактеріофагів переробне підприємство зазнає значних економічних збитків від вибраковки сировини та не виготовлених продуктів. Тому актуальним питанням у повсякденній практичній діяльності на молочних заводах з виробництва кисломолочних продуктів є застосування технологічних приємів і профілактичних заходів щодо не допущення розвитку фагової інфекції під час ферментації.

**Мета і завдання досліджень.** Мета роботи – дослідити циркуляцію літичних фагів молочнокислих бактерій за технології виробництва кисломолочного сиру та розробити профілактичні заходи під час виготовлення продукту.

*Для виконання запланованої мети визначені наступні завдання:*

- 1) Провести аналітичний огляд літератури циркуляції літичних бактеріофагів щодо культур заквасок на молокопереробних підприємствах;
- 2) Здійснити моніторинг бактеріофагів молочнокислих мікроорганізмів на підприємствах з виробництва кисломолочного сиру;
- 3) Визначити контамінацію бактеріофагами сквашувальної суміші, готового продукту під час виробництва кисломолочного сиру;
- 4) Провести моделювання процесу вплив різної кількості бактеріофагів на технологічний процес виробництва кисломолочного сиру.
- 5) Розробити технологічну та апартурно-технологічну схему процесу та графік організації виробничого процесу під час виробництва кисломолочного сиру.

*Об'єкт дослідження* – закваски для виробництва кисломолочного сиру, літичні бактеріофаги, кисломолочний сир, технологія виробництва сиру.



*Предмет дослідження* – розвиток бактеріофагів за ферментації сировини на кисломолочний сир, моделювання процесу контамінації фагами заквасочних культур молочнокислих бактерій.

*Методи досліджень*: аналітичні (огляд наукових публікацій про вплив фагів на молочнокислий процес у технології ферментації молочної сировини); мікробіологічні (моніторинг фагів на різних молокопереробних заводах) фізико-хімічні (динаміка титрованої кислотності за фагової інфекції суміші до заквашування).

**Наукова новизна одержаних результатів.** У цеху з виробництва кисломолочного сиру технологічне обладнання приблизно в 15 – 25 % контаміноване літичними бактеріофагами, які лізують заквасочні культури. Під час моделювання процесу вплив різної кількості бактеріофагів на технологічний процес виробництва кисломолочного сиру встановлено, що у випадку зараження молочної суміші до заквашування літичним бактеріофагом у кількості більше  $10^2$  БУО/мл тривалість процесу виробництва суттєво зростає, або повністю зупиниться ферментація за участі молочнокислих бактерій.

**Практичне значення отриманих результатів.** Запропоновано проводити обов'язковий моніторинг циркуляції фагів у цеху виробництва кисломолочного сиру 1 раз в квартал та у випадку сповільнення ферментації молока проводити ротацію заквасок.

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачка магістерського ступеня самостійно проводила літературний та патентний аналіз джерел за темою дослідження, сформувала мету і завдання майбутніх досліджень, провела планування експериментальної частини, освоїла методики, виконала дослідження та інженерно-графічну частину, написала роботу та представила її до захисту.

**Апробація результатів.** Виступ на II Міжнародній науково-технічній конференції «Якість води: біомедичні, технологічні, агропромислові і екологічні аспекти» 24-25 травня 2023 року / Тернопіль: Тернопільський

національний технічний університет ім. І. Пулюя (м. Тернопіль, 24-25 травня 2023 р.). (Додаток А).

**Публікації.** За матеріалами кваліфікаційної роботи опубліковано одну наукову працю у тезах: Карабін Н. І., Кухтин М. Д. (2023). Роль фагів молочнокислих мікроорганізмів у технологіях виробництва сиру і кисломолочних продуктів. Матеріали II Міжнародної науково-технічної конференції «Якість води: біомедичні, технологічні, агропромислові і екологічні аспекти» (м. Тернопіль, 24–25 травня 2023 р.), М-во освіти і науки України, Терн. націон. техн. ун-т ім. І. Пулюя [та ін.]. – Тернопіль: ФОП Паляниця В. А., 2023. – С. 45. (Додаток А).

**Структура і обсяг роботи.** Кваліфікаційна робота складається з: вступу, розділів основної (експериментальної) частини, інженерно-графічної частини, охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях, висновків та пропозицій виробництву, переліку літератури та додатків. Магістерська робота має 77 стор. та містить 5 таблиць, 7 рисунків. Перелік літератури складається з 91 джерел.

# РОЗДІЛ 1

## ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### **1.1. Використання сирів у харчуванні населення та вплив компонентів молочних продуктів на здоров'я**

Основна причина, яка зумовила людство до переробки молока на сир – це збереження швидкопсувного продукту і перетворення корисних речовин молока в стабільний продукт, який можна довше зберігати. Оскільки молоко є сприятливим середовищем для розвитку різноманітних, як корисних, так і патогенних мікроорганізмів [15, 16, 19]. До того ж переробка молока розширила перспективи розробки значного асортименту продуктів, оскільки сири використовують для виготовлення різноманітної їжі [1, 17].

У даний час споживання сиру широко поширене в усьому світі. Однак кількість споживаного сиру сильно відрізняється в різних країнах, наприклад у Греції, Франції, Німеччині, Італії та Швейцарії споживання сиру на душу населення становить більше 20 кг на рік. Водночас споживання сиру в таких країнах, як Мексика, Японія, Україна, у країнах Південної Африки та Китаю дуже низька. Тим не менш, споживання сиру безперервно зростає протягом останніх років у більшості вибраних країнах, а також у всьому світі [2].

Сьогодні основною причиною споживання сиру є не профілактика голоду, а даний продукт є джерелом постачання важливих і незамінних поживних речовин, його використовують у різноманітних стравах для надання вишуканого смаку [18]. Технологічний прогрес призвів до появи на ринку великої кількості різноманітних видів сиру, що відрізняються за текстурою та смаком. У даний час спостерігається зрушення від оптимуму якості продукції до оптимуму для споживача [2, 20].

Тож нині дослідження більше не базуються на виробництві значної кількості сиру, а більше спрямовані на комерціалізацію сиру, як функціонального продукту харчування. Запроваджуються технології, які при

переробці молока дбайливо впливають на його складові компоненти, щоб зберегти або навіть накопичити бажані поживні речовини та видалити небажані сполуки. Оскільки все більше і більше людей хочуть контролювати своє здоров'я за допомогою їжі, виготовленої на замовлення, світовий ринок функціонального харчування є одним із ринків, що розвиваються найшвидше [2, 20].

Як уже згадувалося, сир є важливим джерелом білків і незамінних амінокислот. У літературі добре задокументовано, що сир містить усі незамінні амінокислоти, за винятком метіонін і цистеїн у кількостях, що перевищують рекомендовані концентрації для дітей та дорослих [3, 20]. Важливу роль в харчуванні людини відіграють не тільки білки та амінокислоти, але протягом останніх 30 років проміжним продуктом протеолізу білків в амінокислоти перемістився в центр інтересів – біоактивні пептиди. Це спеціальні амінокислотні послідовності в білках. Поки вони є пов'язані з білками, вони біологічно неактивні. Широкий асортимент біологічно активних речовин, які наявні в складових компонентах молока були описані в літературі [2, 3, ]. Дані речовини впливали на зниження кров'яного тиску, мали адсорбуючі властивості, протимікробну дію, імуномодулюючі, клітинно-модулюючі, антиканцерогенні, антикарієсогенні, антитромботичні, протизапальні властивості та знижували рівень холестерину [4, 5].

Ще одним основним компонентом сиру є жир. Він коливається в різних сирах від 0,2 % (кисломолочний) до 35 % (сичужні) від сухої маси. Одна порція (50 г) повножирного сиру забезпечує приблизно дві третини рекомендованої добової норми споживання жиру. Молочний жир, а отже, сирний жир не змінюється при ферментації продукту, має середній вміст 600 г/кг жиру насичених жирних кислот (НЖК), 235 г/кг жиру мононенасичених жирних кислот (МНЖК) і 46 г/кг жиру поліненасичених жирних кислот (ПНЖК). Однак жирнокислотний склад молочного жиру дещо змінюється

залежно від сезону, зокрема влітку вміст насичених жирних кислот знижується на користь ненасичених жирних кислот [2, 6].

Найбільш поширеною насиченою жирною кислотою є пальмітинова кислота (16:0) з 260 г/кг жиру, на другому місці міристинова кислота (14:0) з 98 г/кг жиру і на третьому місці стеаринова кислоти (18:0) з 80 г/кг жиру [2]. Усі інші насичені жирні кислоти знаходяться між ними приблизно в кількостях від 0,2 і 31 г/кг жиру.

Найпоширеніша ненасичена жирна кислота у молочному жирі — олеїнова кислота (18:1 n7) із 165 г/кг жиру. Молочний жир також забезпечує трансжирні кислоти. Сезонні коливання дуже великі; влітку 73,5 г/кг жиру, а взимку 38,3 г/кг жиру. Трансжирні кислоти, особливо промислового походження відіграють роль у підвищенні ризику ішемічної хвороби серця [7, 8]. Дослідження, які визначали можливий подібний ефект трансжирних кислот жуйних тварин не підтверджує цю гіпотезу: навпаки, нейтральна і навіть злегка негативна кореляція спостерігалася як у чоловіків так жінок [9, 10]. Спеціальною трансжирною кислотою в молочному жирі є кон'югована лінолева кислоти (КЛК), яка характерна для жиру жуйних тварин. У сирі вміст її коливається від 0,1 до 2,5 г/кг жиру [2].

Насичені жирні кислоти мають поганий імідж, оскільки є деякі докази негативного впливу на ліпіди крові а, отже, можливого сприяння ішемічній хворобі серця. Однак насправді окремі насичені жирні кислоти впливають на рівень холестерину в крові по-різному [11, 12, 13]. Крім того, деякі відіграють важливу роль у клітинній регуляції шляхом модифікації білка (ацетилювання), у експресії генів, а також у модуляції генетичної регуляції, у регуляції біодоступності ПНЖК та у відкладенні жиру [14].

Отже, з літературних джерел прослідковується добре виражена цінність сирів у харчуванні людей. Оскільки вони здатні забезпечити організм усіма необхідними речовинами, особливо незамінними амінокислотами. До того ж сири використовують у виробництві різних страв у кулінарії різних країн світу. Тому дослідження технологічних аспектів, які можуть вплинути на

технологічний процес ферментації кисломолочного сиру безпосередньо у цеху виробництва є актуальними і мають на меті виявити причини, що можуть порушити процес виробництва продукту.

## **1.2. Чинники, які впливають на процеси ферментації молочної сировини**

У ферментативному молочному процесі ріст молочнокислих бактерій і їх метаболічна активність необхідні для забезпечення високоякісного кінцевого продукту. Ці мікроорганізми виробляють молочну кислоту шляхом бродіння лактози, що призводить до швидкого зниження рН. Виробництво сирів і кисломолочних продуктів значною мірою залежить від цього фактора, який також має вирішальне значення для забезпечення контролю патогенних і псувальних мікроорганізмів [21, 22].

Бактеріофаги або «фаги» — це віруси, які вражають бактерії. Нині вважається, що вони представляють найпоширеніші біологічні об'єкти з орієнтовним діапазоном від  $10^{30}$  до  $10^{32}$  загальних частинок фагів на землі, припускаючи, що вони перевищують кількість бактерій приблизно в 10 разів [23, 24]. Ці бактеріальні віруси присутні в екосистемах, де були виявлені бактерії, включаючи людину. Виявлені екологічні ніші асоціації бактеріофагів до молочнокислих бактерій у ємкостях для ферментації молока на молокопереробних заводах. Промисловість має справу з цим біологічним явищем протягом багатьох років і покладається на різноманітні практичні підходи до контролю фагів, які включають адаптивний монтаж технологічної лінії, покращену санітарію, адекватну вентиляцію, зміни процесу виробництва, покращене початкове середовище та чергування культур [25, 26, 27]. Однак, незважаючи на значні зусилля, фагова інфекція стартових молочнокислих культур залишається найпоширенішою причиною повільної або неповної ферментації в молочній промисловості, і як дослідникам, так і

промисловим технологам відомі регулярні, хоча й неопубліковані випадки, коли фагі інфекції фактично призводять до зниження якості продукту.

### **1.2.1 Ефективність заквасок під час ферментації молочної сировини**

На ріст молочних заквасок може впливати низка факторів, зокрема якість сирого молока, наявність антибіотиків або дезінфікуючих засобів, бактеріальна взаємодія та фаги [28, 29].

#### *Склад сирого молока*

Молочнокислі мікроорганізми, як правило, мають складні потреби в харчуванні. Як наслідок, більшість видів молочнокислих бактерій можуть рости лише в середовищах, де такі складові, як амінокислоти та вітаміни, є у вільному доступі. Навіть якщо молоко забезпечує ідеальне середовище для росту, інші компоненти можуть діяти як інгібітори молочнокислих бактерій [30]. Система лактопероксидаза-тіоціанат-перекис водню, а також імуноглобуліни, які природно присутні в молоці, є одними з відомих інгібіторів, що впливають на активність молочнокислих бактерій. Якщо перекис водню присутній у молоці як метаболіт якогось мікроорганізму, він поєднується з лактопероксидазою для окислення тіоціанату в продукти (сульфат, вуглекислий газ, аміак і воду), які пригнічуватимуть деякі молочнокислі бактерії. Деякі бактерії, в тому числі види молочнокислих, також можуть аглютинувати в сирому молоці. Цей ефект викликають антитіла, які містяться у фракції глобуліну молока. Як наслідок, бактерії можуть утворювати згустки та осад на дні танків для ферментації, спричиняючи повільне або неоднорідне утворення кислоти. Однак інгібіторна роль цих сполук головним чином актуальна, коли сире молоко використовується для виробництва сиру, оскільки аглютиніни та імуноглобліни інактивуються під час термічної обробки або процесу гомогенізації. Лейкоцити та лізоцим, також присутні в молоці, мають антимікробні властивості, останніми особливо стійкий до термічної обробки.

Зазвичай їх рівень у молоці дуже низький, але підвищується через мастит і високу кількість соматичних клітин. Антибактеріальну дію також часто пов'язують з лактоферином, глікопротеїном, що зв'язує залізо, присутнім у молоці. Нарешті, антибіотики, які можуть потрапляти в молоко внаслідок лікування корів від бактеріальної інфекції вимені, також можуть впливати на ріст і активність молочнокислих бактерій. Якісне сире молоко не повинно містити залишків антибіотиків, але деякі звіти вказують на те, що ці молекули відповідають за повільне підкислення під час процесів бродіння молока. Чутливість молочних заквасок до антибіотиків буде різною, хоча загалом *Lactococcus spp.* є набагато більш стійкими до пеніциліну, *Lactobacillus spp.* до тетрацикліну та *Streptococcus thermophilus* до стрептоміцину [28].

#### *Бактеріальні взаємодії та фаги.*

Швидкість продукування кислоти деякими штамми молочнокислих бактерій може збільшуватися в присутності інших мікроорганізмів, таких як *Micrococcus spp.*, які або видаляють  $H_2O_2$ , або виробляють стимулюючі метаболіти [31]. На відміну від цього, низькі концентрації вільних жирних кислот можуть також інгібувати деякі штами молочнокислих бактерій. Низький рівень цих органічних кислот присутній у свіжому сирому молоці, їх концентрація підвищується внаслідок активності психротрофних бактерій, таких як *Pseudomonas spp.* [32, 33]. Навіть якщо здатність деяких молочних заквасок виробляти бактеріоцини, як правило, вважається позитивною властивістю для харчового продукту. З міркувань безпеки ця функція може бути проблематичною, якщо антимікробний спектр включає види молочнокислих бактерій. Незважаючи на вищезазначене, фагова інфекція є найважливішим біологічним фактором, що впливає на промисловість, яка покладається на ріст молочнокислих бактерій і їх метаболічну активність. Залежно від стадії процесу, на якій протікає інфекція, наслідки можуть варіюватися від повільного утворення кислоти до повної втрати партії



продукту [28]. Високі значення рН, висока концентрація залишкової лактози та недостатній вміст молочної кислоти є результатом фагових атак, що відбуваються на ранніх стадіях бродіння. Зокрема, залишкова лактоза може бути субстратом для росту та метаболічної активності бактерій псування, що негативно впливає на якість продукту. Крім неадекватної загальної якості продукту, усі ці фактори можуть становити оптимальну екосистему для росту патогенів із серйозними наслідками для здоров'я споживача.

Визнана повсюдна присутність фагів у молочних заводах є основою для досліджень, спрямованих на контроль, а не на їх викорінення [23]. З кількох причин виробництво кисломолочного сиру є найбільш ураженим процесом. У всьому світі великі обсяги сирого молока щодня ферментуються за допомогою заквасок молочнокислих мікроорганізмів, причому найбільш широко використовується *Lactococcus lactis*.

Отже, фаги *Lactococcus lactis* є найкраще вивченими та задокументованими у світі, за ними йдуть фаги *S. thermophilus* [23, 34]. Кількість зареєстрованих фагів *Lactobacillus* значно нижча, можливо, через характеристики процесів, пов'язаних із цим родом. Однак кілька фагів, що впливають на процеси бродіння, викликані *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii subsp bulgaricus* або *Lb. delbrueckii subsp lactis* були виділені та задокументовані [35]. Нарешті, нові дані свідчать про збільшення кількості фагів для конкретних пробіотичних штамів молочнокислих бактерій, особливо *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. casei* і *Lb. paracasei*, які все частіше використовуються в деяких ферментованих продуктах [36].

### **1.3. Контамінація фагами молочного середовища**

#### *Сире молоко (молоко-сировина)*

Зараз визнано, що найбільш постійним джерелом нових фагів у молочному середовищі є сире молоко, з їх концентрацією від  $10^1$  до  $10^4$  фагів в 1 мл [37, 38]. Дослідники [27] повідомили, що майже 10 % зразків сирого молока, зібраних з різних молокозаводів в Іспанії, містили інфекційні

лактококові фаги. Кілька дослідницьких груп також повідомили, що багато молочних фагів здатні пережити пастеризацію молока [38, 39]. Крім того, концентрація фагів ще вища, якщо для виробництва кисломолочних продуктів використовується лише термізоване або сире молоко.

Отже, фаги можуть потрапити у виробничий процес і швидко накопичуватися під час ферментації, якщо використовуються чутливі до фагів штами, досягаючи концентрації до  $10^9$  фагів в мл сирної сироватки або на г продукту [40, 31] або до  $10^8$  бляшкоутворюючих одиниць (БУО) в мл у розсолі [38] та до  $10^8$  БУО в  $m^3$  повітря [41, 42]. Загалом, велика різноманітність фагів природним чином присутня в екосистемі сирого молока, тому відсутність фагів на молокозаводах є недосяжною перспективою.

#### *Заводське середовище*

Незважаючи на те, що сире молоко є найбільш логічним джерелом фагів у промисловому середовищі, на молокозаводах може відбуватися кілька шляхів їх розсіювання. Аерозоліювання в даний час визнано важливим шляхом розсіювання [43]. Переміщення персоналу або транспортування обладнання та/або сировини може спричинити розсіювання фагових частинок у вигляді аерозолію. Наслідки цього аерозоліювання ще гірші, якщо дисперсія необмежена між забрудненою та незабрудненою зонами. Крім того, фаги, присутні в перероблених побічних продуктах, також можуть поширюватися на все виробниче середовище, оскільки біоаерозолі можуть залишатися в повітрі протягом тривалого часу [43, 44]. Додатковими недооціненими джерелами забруднення фагами є робочі поверхні в молочному виробництві. У недавньому дослідженні [42] за допомогою полімеразно ланцюгової реакції виявлено докази наявності генетичного матеріалу с2-подібних і 936-подібних лактококових фагів на різних поверхнях, таких як підлога, стіни, сходи, дверні ручки, офісні столи, обладнання, мийні засоби та труби. Хоча незрозуміло, чи були ці фаги

активними чи неактивними під час відбору зразків, ці дані підкреслюють важливість правильних санітарних заходів, а також особистого навчання для зменшення ризиків зараження фагами [45].

### *Переробка молочних побічних продуктів*

Молочна промисловість, зокрема виробництво сиру, переробляє концентрати сироваткового білка для збільшення виходу продукту та/або покращення характеристик кінцевого продукту [46]. Однак такий процес є ризикованим через можливу присутність фагів у цих інгредієнтах [47]. Дійсно виявлено, що фаг залишався присутнім у рідинах (сироватці, концентраті сироваткового білка, тощо), які піддалися низькотемпературній пастеризації та навіть за високотермічної обробки, наприклад 95 °C протягом кількох хвилин [38, 40]. Крім того, солі, жир, сахариди та білки сироватки можуть захистити фаги від термічного пошкодження, таким чином збільшуючи ризик такої практики переробки. Щоб збільшити ризик, пов'язаний з концентрованими сироватковими білками, сироватку часто концентрують (ультрафільтрація або мікрочастинки), таким чином підвищуючи рівень фагів через можливе утримання віріонів мембранами. Загальна рекомендація щодо мінімізації проблем, пов'язаних із концентратами сироваткових білків, полягає в тому, щоб його додавання було додано лише до ферментації, що передбачає використання істотно різних заквасок, таких як мезофільні та термофільні бактерії. Слід також зазначити, що сироваткові продукти, отримані від виробників з використанням натуральних невизначених (невідомого складу) заквасок, не слід додавати до процесів, керованих культурами визначеного (відомого складу) штамів. Природні закваски часто містять фаги, і ці віруси становлять серйозну загрозу для обмеженої кількості штамів, що входять до складу визначених заквасок [21].

### *Наявність профагів*

Дослідження секвенування геному підтвердили, що багато штамів молочнокислих бактерій містять профаги [48]. Насправді, лізогенія широко поширена серед молочних лактококів і лактобацил [49, 50]. Значно менша частота лізогенії була продемонстрована у видів *S. thermophilus*, оскільки лише кілька штамів (2 %) були індуковані мітоміцином С [50]. Хоча інші дослідники повідомляють про набагато вищі кількості наявності профагів (25 %) [50]. Нещодавнє дослідження показало, що 25 із 30 пробіотичних штамів *Lactobacillus* містили індукцйбельні профаги [51]. Впливаючи на ці лізогенні фаги молочнокислих бактерій факторами навколишнього середовища, такими, як спека, сіль, протимікробні препарати або голодування, можна активувати індукційні профаги, які реплікуватимуться, що призведе до вивільнення нових віріонів. Останні можуть потенційно інфікувати чутливі штами стартових культурах лактобактерій [52]. Дослідники [53] виділили два літичні фаги для штаму *Lb. paracasei* з чистих культур, що вказує на те, що обидва фаги, швидше за все, могли еволюціонувати з лізогенного стану. Коли це можливо, присутність профагів, а також ризик їх спонтанної індукції слід ретельно досліджувати під час відбору штамів і розробки культур для конкретних процесів промислової ферментації [23]. Слід зазначити, що виявлення присутності індукованих профагів у лізогенних штамів може включати кілька досліджень. В ідеалі обробка культури індуктором, що призводить до лізису клітин і подальшого утворення бляшок, є першим доказом лізогенії. Однак може бути важко знайти відповідні штами-індикатори, тому негативний результат не є доказом відсутності індукованих профагів. Варіантом може бути спостереження під електронним мікроскопом для візуалізації індукованих фагів у лізаті [54]. Навіть залишки профагів, які втратили більшу частину фагового геному, не є інертними сутностями в бактеріальних хромосомах. Дійсно, дефектні (і функціональні) профаги є джерелом генів для рекомбінації з інфікуючими вірулентними фагами [54, 55]. Цікаво, що лізогенні штами не завжди можуть призводити до згубних наслідків. Дослідження контрольованого лізису

лізогенних бактерій показали позитивні ефекти, такі як зменшення гіркоти для деяких дозрілих сирів, де гідроліз казеїнових гідрофобних пептидів здійснюється внутрішньоклітинними бактеріальними пептидазами, що вивільняються фаговим лізисом [56]. Профаги можуть також нести відповідальність за резистентність лізогенного штаму проти інфекції вірулентними фагами. Захист забезпечується генами-профагами, зокрема генами виключення суперінфекції, які можуть кодувати молекули-репресори [57].

### *Класифікація молочних бактеріофагів*

Відповідно до Міжнародного комітету з таксономії вірусів (ICTV), усі відомі фаги, що інфікують молочнокислі бактерії, є хвостатими фагами та членами Порядку *Caudovirales*. Хвостаті фаги, у свою чергу, поділяються на три родини: *Podoviridae*, *Myoviridae* та *Siphoviridae*. Представники *Podoviridae* мають короткі хвости, що не скорочуються; міофаги мають хвости зі скоротливою оболонкою та центральною трубкою, тоді як сифофаги мають нескоротливі хвости [58]. Як зазначалося раніше, *Lactococcus* є найбільш широко використовуваним у молочній промисловості бактеріями, а фаги, що інфікують цей рід, є найбільш вивченими. Лактококові фаги в основному належать до родини *Siphoviridae*, з невеликою кількістю *Podoviridae*. Лактококові фаги в даний час класифікуються на 10 груп на основі аналізу морфології та геномної послідовності. Доступний принаймні один геном з кожної групи лактококових фагів [59]. Проте більшість лактококових фагів, виділених за ферментації кисломолочного сиру, належать до однієї з трьох основних груп: 936, c2 і P335. Нещодавній огляд фагів *Lactobacillus* повідомив про 231 фагів, 186 з них морфологічно охарактеризовані [35]. Загалом 109 були сифофагами, 76 були міофагами, і лише один належав до родини *Podoviridae*. До появи геномних послідовностей класифікація фагів *Lactobacillus* базувалася в основному на морфологічних спостереженнях і гомології ДНК, фаги *Lb. delbrueckii* були

першими, які були класифіковані в 1980-х роках [60]. Пізніше кілька повністю секвенованих фагів генома *Lactobacillus* були віднесені до схеми класифікації, заснованої на організації структурного генного модуля сифофагів [61]. Подальші пропозиції щодо класифікації фагів *Lactobacillus* базувалися на виведених протеомних деревах без урахування морфології фагів, але недостатня представленість фагів *Lactobacillus* у цих схемах може спотворити вплив цих філогенетичних дерев [62]. Усі фаги *S. thermophilus*, про які повідомлялося на сьогодні, є членами сімейства *Siphoviridae*, і їх можна об'єднати у дві різні групи відповідно до їх механізму упаковки ДНК і кількості основних структурних білків [63]. Хоча третя група фагів *S. thermophilus*, можливо, була виявлена нещодавно [64]. Існує суворя кореляція між наявністю певного набору основних структурних фагових білків і механізмом упаковки ДНК, демонструючи, що фаги, що містять *cos*, мають два основних структурних білка на відміну від фагів, що містять *pac*, які мають три основні структурні білки. Крім того, велике розмаїття стрептококових фагів часто спостерігається у виробництві кисломолочного сиру, на відміну від більш однорідної популяції фагів на підприємствах з виробництва йогурту [34]. Різноманітність популяцій фагів у виробництві сиру може бути наслідком ротації кількох штамів *S. thermophilus* у заквасках у порівнянні з йогуртовими заквасками [65]. Штами *Leuconostoc* присутні в деяких молочних мезофільних заквасках, найчастіше змішаних із лактококами [66]. Ця комбінація необхідна для більшості застосувань, оскільки *Leuconostoc* повільно росте в молоці порівняно з лактококами, але його додавання все одно забезпечує специфічний молочний смак. Про біологію фагів *Leuconostoc* доступно дуже мало інформації, можливо тому, що в літературі повідомлялося про небагато проблем із фагами [67]. З іншого боку, фаги *Leuconostoc* були виділені під час ферментації кави [75] та в розсолах для бродіння квашеної капусти [69]. У всьому світі більшість цих фагів були віднесені до родин *Siphoviridae* і *Myoviridae*. Зовсім недавно було зареєстровано першу повну послідовність генома фага з фага *Leuconostoc*

[70]. Біоінформаційний аналіз виявив низьку схожість з геномами інших фагів, вказуючи на те, що цей фаг є досить унікальним.

Отже, з розвитком молекулярно-генетичних методів ідентифікації мікроорганізмів відбувалося удосконалення класифікації виявлених фагів молочнокислих бактерій на основі накопичених знань. При цьому більшість фагів в основному належать до родини *Siphoviridae*, і тільки невелика частина до *Podoviridae*.

#### **1.4. Виявлення та кількісне визначення бактеріофагів молочнокислих бактерій на молокопереробних підприємствах**

Раннє виявлення фагів у сирому молоці, інгредієнтах або молочному середовищі призначене для зменшення та контролю атак фагів під час процесів бродіння [78]. Доступні два загальні типи методів виявлення фагів: прямий і непрямий. Методи прямого виявлення зосереджені на виявленні присутності літичних фагових частинок або їх компонентів (ДНК, білків) у зразку. Стандартні мікробіологічні методи, наприклад аналіз змивної рідини з поверхонь, точкові тести та тести на активність, зазвичай застосовуються до молока або кисломолочних продуктів (сирної сироватки та ряжанки). Однією з переваг цього типу методів є розрізнення фагових і нефагових інгібіторів. Недоліки включають вимогу до чутливого штаму індикатора та відносно тривалий час, необхідний для отримання результатів.

Таким чином, молекулярне виявлення є кращим методом, особливо тому, що час аналізу набагато коротший. Кілька аналізів на основі полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) були розроблені та успішно застосовані для виявлення або навіть класифікації фагів *Lactobacillus*, *Lactococcus* і *Streptococcus* у різних молочних матрицях, включаючи сироватку, закваски сирної сироватки та зразки молока [79]. Межа виявлення класичного одноетапного методу ПЛР зазвичай коливається від  $10^4$ – $10^7$  БУО /мл, залежно від типу фага та зразка, але додатковий етап концентрації фага дозволить виявити лише  $10^3$  БУО/мл. Методи на основі кПЦР забезпечують

високочутливий, швидкий і реальний час моніторинг конкретних фагів під час процесу ферментації.

Нещодавно було повідомлено про виявлення фагів *Lb. delbrueckii* та *S. thermophilus* за допомогою тестів швидкого виявлення (час не більше 30 хв) із чутливістю фагів  $10^4$  БУО/мл та  $10^5$  БУО/мл молока, як межі кількісного визначення відповідно [80,81]. У даному дослідженні ця методологія дозволила виявити та підрахувати три групи (с2, 936 і P335) лактококових фагів у козячому сирому молоці та сироватці з низькою межею виявлення ( $10^2$  БУО/мл) приблизно через 2 години [82]. Однак слід зазначити, що ці молекулярні методи не розрізняють активні та неактивні фагові частинки, оскільки вони виявляють фагову ДНК. Методи молекулярного виявлення також можуть бути занадто дорогими та занадто специфічними для звичайного моніторингу. Крім того, ще одна велика незручність, спільна для всіх методів виявлення на основі ДНК, полягає в тому, що вони можуть виявляти лише фаги, послідовності геному яких доступні. Щоб подолати ці обмеження, можна використовувати разом методи на основі ПЛР і класичні мікробіологічні аналізи, щоб отримати більше даних про фаги, що містяться у зразку (титри, діапазон хазяїв, тип фагів) [83].

З традиційних непрямих методів – тест на активність є одним із найбільш часто застосовуваних для рутинного аналізу на молочних заводах. Наявність фагів у зразку оцінюється як зниження кислотоутворення (порівняно з контрольним зразком, вільним від фагів) закваскою або культурою штаму в стерильному, парному або пастеризованому молоці [84]. Необхідно враховувати важливі обмеження для цього аналізу, особливо для стартових змішаних штамів, оскільки нечутливі до фагів штами продовжуватимуть рости та підкислювати середовище. Інші методи виявлення, які називаються індикаторними тестами, засновані на відновленні індикаторної сполуки (зазвичай, метиленового синього або бромтимолового фіолетового чи резазурину) через підкислення культурою середовища в присутності та відсутності фільтрату зразка [85]. Якщо фаги присутні в



зразку, спостерігається затримка або збій у зміні кольору. Як і в тесті на активність, змішані культури можуть маскувати присутність фагів, створюючи хибнонегативні результати. Ще один непрямий метод, запропонований для моніторингу процесу бродіння, включає проточний цитометричний аналіз. Проточна цитометрія заснована на виявленні клітин з низькою масою, які виявляються на пізній стадії літичного циклу. Нещодавно повідомлялося про виявлення лактококової фагової інфекції за допомогою проточної цитометрії з обмеженнями, порівнянними з класичними методами ПЛР ( $10^5$  БУО/мл) [86]. У цьому випадку автори помітили, що під час фагової інфекції типові лактококові ланцюги розриваються, а клітини з низькою щільністю з'являються і їх можна було виявити. Результати дослідження показали, що фагова інфекція *L. lactis* швидко та ефективно виявляється в реальному часі та навіть при перших ознаках фагової атаки. Виявлення було встановлено вже при інфікуванні 1 – 2 % лактококових клітин. З іншого боку, автори стверджують, що великі частинки, такі як еукаріотичні клітини та жирові кульки, повинні бути видалені, щоб уникнути блокування проточного цитометра.

Інший непрямий метод заснований на виявленні змін електричного опору або провідності молока внаслідок зниження вироблення молочної кислоти, коли відбувається інфікування фагом [87]. У проведеному дослідженні García-Aljaro та ін. [88] розробили швидкий фаг метод детекції, заснований на оцінці зміни імпедансу при інфікуванні біоплівки-господаря, встановленої на металевих (платинових і золотих) мікроелектродах. Інфекцію та наступний лізис клітин-господарів спостерігали за допомогою спектроскопії нефарадеївського імпедансу в зразках молока. У цьому випадку фаг *Escherichia coli* та його хазяїн були обрані, як моделі, але методологія була б застосовна до будь-якого молочного фага, якщо відповідний бактеріальний хазяїн може рости на поверхні мікроелектрода. Простота аналізу та можливість мініатюризації системи є одними з переваг. Нещодавно було повідомлено про метод, що поєднує епіфлуоресцентну

мікроскопію та атомно-силову мікроскопію (АСМ) для моніторингу присутності фагів [89]. Зокрема, епіфлуоресцентна мікроскопія дозволяє частинки фагу *Lb. helveticus* підрахувати в культурі, яка інфікована фагом, тоді як AFM дозволяє відстежувати зміни в популяції фагів і бактерій під час процесу інфікування. Фагові частинки, які підлягають підрахунку за допомогою епіфлуоресцентної мікроскопії, потребують фарбування SYBR Green I, тоді випромінюване зелене світло призводить до отримання яскравої частинки, більшої за фактичний розмір віріону, що дозволяє підрахувати її за допомогою флуоресцентного мікроскопа. Як недоліки автори підкреслили те, що за допомогою епіфлуоресцентної мікроскопії підраховуються як вірулентні, так і невірулентні фагові частинки. Беручи до уваги ці факти, автори запропонували комбінований підхід підрахунку фагів, включаючи аналіз бляшок і епіфлуоресценцію, щоб визначити загальну кількість вірусів і специфічність хазяїна в зразках молочних продуктів.

Отже, раннє виявлення бактеріофага в молоці, сирих інгредієнтах або побічних продуктах у будь-який момент бродіння надзвичайно корисний тест для мінімізації згубних наслідків фагових атак на молочних підприємствах. Тим не менш, при виборі конкретного методу виявлення фагів необхідно враховувати кілька характеристик, включаючи об'єм молока, що перетворюється щодня, тип процесу бродіння, використовувану закваску, різноманітність популяції фагів і ризик або частота фагових інфекцій. Додаткові міркування включають вимогу швидкого отримання результатів, межу кількісного визначення та, нарешті, вартість аналізу.

### **1.5. Стратегії контролю бактеріофагів заквасочних стартових бактерій на молочних заводах**

Оскільки присутність фагів є неминучою в середовищі молочних заводів, стратегії боротьби з фагами спрямовані на їх контроль, а не на їх знищення [71]. Програми ротации культур, пряме інокулювання заквасок у

ванну, дбайливе поводження та утилізація сироватки, оптимізована санітарія та використання стартових культур із підвищеною резистентністю до фагів – це деякі з підходів, що застосовуються для мінімізації поширення фагів на молочних заводах [72].

### *Конструкція заводу, потік повітря та обладнання*

Планування молочного заводу є одним із критичних факторів для запобігання зараженню фагами. Слід уникати контакту сировини з відходами (сироваткою або водою). Деякі приклади включають фізичне відділення приймання молока від інших зон заводу, оскільки аерозолі, що містять фаги, можуть утворюватися під час спорожнення цистерни та розливу сирого молока. Приміщення для приготування стартерних заквасок має бути відокремлене від виробничої зони та підтримуватися під позитивним тиском відфільтрованого повітря. Ще одна проблема стосується резервуарів для сироватки та сепараторів, які слід розмістити в окремій зоні, розташованій якомога далі від початкової кімнати та ємностей для виробництва сиру. Уникнення утворення біоаерозолів, а також обмеження кількості мікробів у повітрі за допомогою спрею системи з відповідними дезінфікуючими засобами повинні допомогти контролювати інфекції [71]. Крім того, повітря, яке використовується для застосувань надлишкового тиску, має бути відфільтровано для видалення частинок пилу, які можуть зв'язувати фаги, а впускний отвір для повітря для фільтрів має бути розташований якомога далі від танків для молока та резервуарів для сироватки. До того ж, слід регулярно перевіряти ефективність роботи фільтрів [71]. Нержавіюча сталь з високим ступенем полірування є ідеальним матеріалом для всього обладнання, що використовується в процесах бродіння, оскільки після використання воно має бути піддано ефективному очищенню та санітарній обробці. Резервуари для бродіння повинні бути закриті, стерилізовані теплом або дезінфікуючими засобами, з фільтрованим повітрям під позитивним тиском; резервуари слід періодично перевіряти на наявність тріщин [73].

### *Ефективність санітарних заходів на підприємстві*

Суворі системи очищення та дезінфекції обладнання та посуду, які використовуються під час обробки, є обов'язковою для підтримки рівня фагів на якомога нижчому рівні та мінімізації ризику зараження фагами та їх розповсюдження в молочному заводі. Тут не варто йти на компроміс. При виборі дезінфікуючого засобу слід враховувати кілька факторів, включаючи швидку антимікробну дію, легкість застосування, низьку вартість, відсутність негативного впливу на кінцевий продукт і розпад до нешкідливих кінцевих сполук. Ефективність щодо інактивації фагів є критерієм, який береться до уваги лише нещодавно, що відображається у зростаючій кількості досліджень їхньої вірусної ефективності. Продукти, що містять пероцтову кислоту, часто є найефективнішими, забезпечуючи швидку та ефективну інактивацію частинок фагів. Гіпохлорит натрію, етанол і ізопропанол, які зазвичай використовуються для очищення лабораторних поверхонь і посуду, значно менш ефективні в інактивації вірусів [74]. Було досліджено ефективність кількох класичних біоцидів, що використовуються в молочній промисловості, зокрема визначено їх дію щодо фагів, що інфікують *Lb. Delbrueckii* [75], *Lb. casei* і *Lb. paracasei* [76]. Біоциди з екстремальним рН, такі як лужна хлоридна піна або етоксильований нонілфенол з фосфорною кислотою (значення рН > 12 і < 2, відповідно), були виключно ефективними, хоча рівень рН не є єдиним фактором, який слід брати до уваги при виборі біоциду [77]. Хоча хлорид четвертинного амонію був ефективним [75] р-толуолсульфонхлорамід не показав зниження числа фагів [76].

Оскільки фагові частинки можуть залишатися в повітрі тривалий час, біоаерозолі є одним із найважливіших шляхів розсіювання віріонів. Дуже мало досліджень присвячено цьому питанню. Наприклад, мало даних доступно щодо вірусної ефективності систем фумігації/запотівання, обробки озоном та ультрафіолетового опромінення на промислових підприємствах.

Фотокаталітичні властивості  $\text{TiO}_2$  були досліджені, але головним чином для фотохімічного окислення забруднюючих речовин. Деякі переваги фотокаталізу, такі як низька вартість, висока кількість і безпека  $\text{TiO}_2$ , відсутність залишків, очищення сумішей забруднюючих речовин, широкий діапазон і простота роботи, пропонують цю методологію як альтернативу традиційній хімічній дезінфекції. Напівпровідник  $\text{TiO}_2$  генерує високоокислювальні речовини ( $\text{O}_2^-$  і  $\cdot\text{OH}$ ) під час фотозбудження ультрафіолетовим випромінюванням, таким чином каталізуючи різні хімічні реакції, включно з розкладанням органічних сполук. Застосування фотокаталізу було здебільшого призначене для знищення грибків, бактерій і спор у повітрі [78], але його ефективність для інактивації вірусів у біоаерозолях була досліджена лише нещодавно. У дослідженнях [78, 79] повідомили про інактивацію рідких суспензій фагів молочнокислих бактерій (*Lb. casei*) за допомогою керамічного препарату, покритого сумішшю оксидів ( $\text{TiO}_2$  та  $\text{AgO}$ ) та чорного світла (300–400 нм). Зменшення на 6 порядків було відтворено для фагів *Lb. delbrueckii* і *Lb. plantarum* після експозиції фотокаталізу протягом менше 1 години, тоді як для фагів *Lb. casei* та *L. lactis* потрібно було 2 години [80].

#### *Стартові культури*

Використання натуральних заквасок, що складаються з невизначеної суміші різних штамів та/або видів, все ще є ключовим для виробництва багатьох традиційних сирів у різних країнах [81]. Ці кустарні закваски вважаються високотолерантними до фагової інфекції, оскільки вони вирощені в присутності фагів, що призводить до домінування резистентних або толерантних штамів. Однак обмежена відтворюваність їх технологічних характеристик призвела до заміни цих традиційних заквасок на прямі багатоштамові культури (DSC) у виробництві багатьох промислових великомасштабних сортів сиру. Штам і/або види в DSC ідеально визначені, а їх технологічні показники є високовідтворюваними. Однак, як наслідок обмеженої кількості використовуваних штамів, фагова інфекція може

спричинити порушення молочнокислого бродіння. Використання концентрованого DSC, доданого безпосередньо в чан (пряма інокуляція культур у ванну — DVI), є альтернативою без необхідності розмноження закваски на місці, таким чином, зменшуючи ризик зараження фагами з середовища сироварні.

Крім того, чергування цих культур є, ймовірно, основною основою для ефективної програми контролю фагів: уникнення повторного зараження тим самим фагом і накопичення високих рівнів фагів в технології виробництва сиру. Незважаючи на те, що ця стратегія підходить не для всіх процесів виробництва молочних продуктів, вона забезпечує відносно простий спосіб мінімізувати збої ферментації через розвиток фагів [82].

Як наслідок, останнім часом були зроблені спроби пошуку потенційних нових бактерій-заквасок з пилу диких рослин, зі сирого молока, традиційних молочних ферментованих продуктів. На практиці високо цінуються штами молочнокислих бактерій, які проявляють значну стійкість до антибіотиків та проявляють протехнологічні властивості (наприклад, широка резистентність до фагів, висока кислотоутворююча активність, відсутність стороннього присмаку).

Отже, підводячи підсумок зробленого огляду літератури з актуальністю та наслідками фагових інфекцій у молочній промисловості, зокрема у технології виробництва кисломолочних продуктів, необхідно відзначити, що наявність на молокопереробному підприємстві фагів молочнокислих бактерій є явище постійне, яке уникнути неможливо. Проте, усі заходи повинні зводитися до запровадження суворих санітарних і гігієнічних практик та постійного моніторингу даних фагів у цехах з виробництва ферментованих продуктів. Тому враховуючи дану ситуацію актуальним є проведення дослідження з моніторингу фагів на молокопереробному підприємстві та на основі отриманих результатів запропонувати превентивні заходи у технології виробництва кисломолочного сиру – продукту під час виробництва якого найчастіше розвивається фагова інфекція до заквасочних культур.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Усі наукові дослідження за вибраною темою було проведено в лабораторії «Технологій, аналізу та експертизи харчової продукції і води» кафедри ХБ ТНТУ ім. І. Пулюя.

Враховуючи сучасні аналітичні літературні бази даних та актуальність проблеми щодо контамінації літичними бактеріофагами молочнокислих бактерій на підприємствах з переробки і ферментації молока та вплив їх на технологію виробництва кисломолочного сиру було вибрано тему магістерської роботи та сформовано її мету: дослідити циркуляцію літичних фагів молочнокислих бактерій за технології виробництва кисломолочного сиру та розробити профілактичні заходи під час виготовлення продукту.

Об'єкт дослідження – закваски для виробництва кисломолочного сиру, літичні бактеріофаги, кисломолочний сир, технологія виробництва сиру.

Предмет дослідження – розвиток бактеріофагів за ферментації сировини на кисломолочний сир, моделювання процесу контамінації фагами заквасочних культур молочнокислих бактерій.

Методи досліджень: аналітичні (огляд наукових публікацій про вплив фагів на молочнокислий процес у технології ферментації молочної сировини); мікробіологічні (моніторинг фагів на різних молокопереробних заводах) фізико-хімічні (динаміка титрованої кислотності за фагової інфекції суміші до заквашування).

#### 2.1. Етапи проведення досліджень

Під час виконання магістерської роботи було визначено для реалізації чотири частини (рис. 2.1), виконання яких в сукупності мало вирішити заплановану мету та завдання.

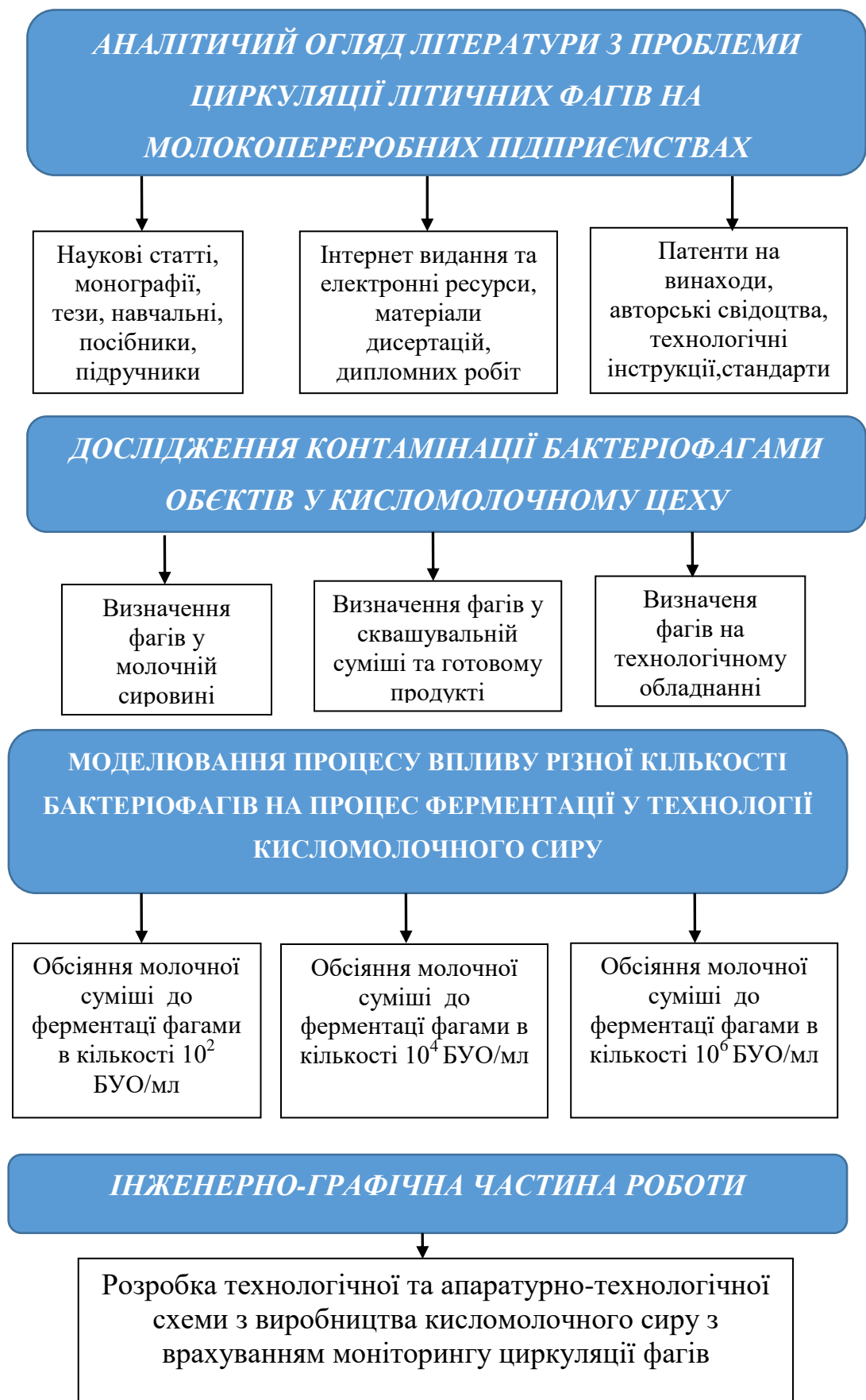


Рис. 2.1. Схема виконання основних частин магістерського дослідження



Зокрема, у першому розділі було розглянуто питання чинників, які впливають на процеси ферментації молочної сировини; ефективності заквасок під час ферментації; контамінація фагами молочного середовища та стратегії контролю бактеріофагів заквасочних стартових бактерій на молочних заводах.

У другому класичному розділі «Матеріали і методи досліджень» наведено методики мікробіологічних досліджень з визначення літичних фагів активних щодо молочнокислих бактерій трьох заквасок (*DelvoFresh SC-603*, *Coltura di fermenti lattici selezionati*, *Tvorog*). Також у даному розділі наведена блок-схема виконання роботи.

У третьому (експериментальному) розділі наведено результати проведених своїх виробничих та лабораторних досліджень з моніторингу бактеріофагів молочнокислих мікроорганізмів на підприємствах з виробництва кисломолочного сиру; з контамінації бактеріофагами сквашувальної суміші, готового продукту під час ферментації на кисломолочний сир; з моделювання процесу впливу різної кількості бактеріофагів на технологічний процес виробництва кисломолочного сиру.

У четвертому розділі здійснено інженерно-графічні креслення технології виробництва кисломолочного сиру.

## **2.2. Методи досліджень**

У роботі проводили визначення контамінації бактеріофагами молочної сировини та об'єктів у кисломолочному цеху за стандартною методикою на твердих агарових середовищах за методом (Грація) [86, 87]. Для реплікації бактеріофагів використовували молочнокислі бактерії трьох заквасок (*DelvoFresh SC-603*, *Coltura di fermenti lattici selezionati*, *Tvorog*), які засівали на щільне середовище MRS. Після підсушування середовища на нього наносили сировину, суміш для заквашування або змиви з технологічного обладнання у кількості 0,1 мл. Після інкубування в термостаті проводили підрахунок утворених пляшків (зон просвітління).

Підкислення середовища під час ферментації визначали класичним титрометричним методом. Усі дослідження проведені у трьох разовій повторності, а отримані дані подавалися статистичному аналізу, при якому  $P \leq 0,05$  вважалося статистично вірогідним.



## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

#### **3.1. Актуальність проведення моніторингових досліджень циркуляції фагів на молокопереробних підприємствах з виробництва кисломолочних продуктів**

Протягом останніх 25 років конструювання генно-інженерних штамів молочнокислих мікроорганізмів інтенсивно вивчалось як альтернатива розробці або використанню транскон'югантів або стійких до фагів мутантів заквасочних культур. Було розроблено кілька генетичних інструментів, заснованих на характеристиці та експлуатації нативних фагових захисних механізмів молочнокислих бактерій, а також деяких фагових генетичних елементів [41]. Ці антифагові підходи, в основному включають наявність резистентності до бактерій, які використовуються в заквасках для різних харчових виробництв, де проходять ферментативні процеси за участі мікроорганізмів. Тим не менш, незважаючи на інтенсивні дослідження та економічну підтримку, технології з виробництва заквасок для молочних продуктів не принесли очікуваної вигоди, головним чином через скромний прогрес у розробці законодавства щодо використання генетично модифікованих організмів. Адже використання у харчових технологіях дозволено лише лактобактерій відібраних від природних джерел або традиційних крафтових продуктів. Тому контроль фагових частинок у стартових пробіотичних бактеріях проходить постійний моніторинг з обов'язковим документуванням.

Під час технології виробництва певних видів кисломолочних продуктів із застосуванням стартових заквасочних бактерій проходить їх розмноження у процесі ферментації, що робить їх особливо вразливими до лізогенних бактеріофагів. Адже, давно відомо, що штами *Lactobacillus* містять профаги, створюючи можливість спонтанної індукції профагів під

час використання або залучення ДНК профага до генерації нових вірулентних фагів. Для заквасочних молочнокислих фагів стратегії контролю обмежені, оскільки ротація штамів, ймовірно, неможлива, а конкретні твердження щодо здоров'я можуть бути незастосовними безпосередньо, тому фаги поступово генеруються під час тривалого використання одної і тої ж закваски у технологічному процесі.

У зв'язку з тим, що найбільший ризик виникнення фагової інфекції за технології виробництва кисломолочних продуктів виникає під час ферментації сировини за виробництва кисломолочного сиру, наші дослідження були спрямовані на визначені розповсюдження фагів молочнокислих бактерій у цеху з виробництва цього продукту. Ризик виникнення фагової інфекції в процесі виробництва кисломолочного сиру найбільший, даний чинник пов'язаний з тим, що наявність кислого і поживного середовища (сироватка, яка багата на мінеральні речовини для активного розвитку фагів). Тому незважаючи на значний прогрес, досягнутий протягом останніх десятиліть у зменшенні загальної проблеми, пов'язаної з забрудненням фагами об'єктів і предметів виробничого середовища, все ще потрібні вдосконалення по ходу технологічного процесу. Зокрема, в ідеалі необхідні швидкі та онлайн-інструменти, які б виявляли активні лізогенні фаги молочнокислих бактерій навіть у незначних кількостях. До того ж все ще потрібні нові технології для видалення фагів із сировини та побічних продуктів, а також повітря та обладнання. Необхідно працювати над технологіями, які передбачають застосування захисних інгібуючих середовищ, що затримують розвиток фагів у сировині та попереджують їх контакт із клітинами своїх господарів. Тому краще розуміння процесу взаємодії фагів і молочнокислих бактерій в середовищі молокопереробних підприємств дозволить покращити ефективність роботи кисломолочного цеху та знизити ризики від недоодержання готової продукції. Власне саме така ідея була в основі запланованого нашого дослідження з моніторингу

бактеріофагів у цеху з виробництва кисломолочного сиру з удосконаленням технологічного процесу ферментації.

### 3.2. Моніторинг бактеріофагів молочнокислих мікроорганізмів на підприємствах з виробництва кисломолочного сиру

Враховуючи поставлену мету нами було проведено дослідження на декількох молокопереробних підприємствах, які виготовляють кисломолочний сир. При цьому виявлення бактеріофагів проводили застосовуючи комплексний підхід від дослідження молочної сировини і по всьому ходу технологічного процесу виробництва кисломолочного сиру. Також досліджено концентрацію бактеріофагів на різних об'єктах у виробничому цеху та допоміжному обладнанню. Такий підхід дозволить виявити найбільш критичні точки у яких може накопичуватися бактеріофаг. На даних молокопереробних підприємствах використовують різні види заквасок прямого внесення у сировину. Результати моніторингових досліджень наявності фагів у молоці-сировині та у змивах з танків резервування молока наведено в табл. 3.1.

Таблиця 3.1

#### Контамінація бактеріофагами молочнокислих мікроорганізмів молока-сировини на переробних підприємствах, $M \pm m$ , $n=3$

Об'єкт дослідження	Назва закваски		
	№1 ( <i>DelvoFresh</i> <i>SC-603</i> )	№2 ( <i>Coltura di fermenti</i> <i>lactici selezionati</i> )	№3 ( <i>Tvorog</i> )
	Частота виділення фагів з молока/змиву, %		
Підприємство №1			
Молоко-сировина (танк №1)	74,3 ± 4,1	55,3 ± 3,8	62,4 ± 5,0
Змив з танку №1	22,7 ± 2,0	17,1 ± 1,2	20,3 ± 1,8

Підприємство №2			
Молоко-сировина (танк №2)	81,6 ± 5,4	61,6 ± 4,1	75,2 ± 5,3
Змив з танку №2	24,2 ± 2,1	19,8 ± 1,5	23,6 ± 1,8
Підприємство №3			
Молоко-сировина (танк 3)	65,9 ± 3,8	51,2 ± 3,3	55,4 ± 3,4
Змив з танку №3	33,8 ± 2,0	23,1 ± 1,4	27,1 ± 1,5

З табл. 3.1 спостерігаємо доволі високу контамінацію бактеріофагами молока-сировини на всіх трьох підприємствах з його переробки. При цьому відмічається найбільша стійкість до фагів молочнокислих культур наявних у заквасці № 2 – *Coltura di fermenti lattici selezionati*, порівнюючи з іншими мікроорганізмами заквасок, які використовуються на даних підприємствах. Зокрема, у молоці-сировині були наявні бактеріофаги, які лізували штами молочнокислих бактерій, які входять у склад закваски *DelvoFresh SC-603* від 65,9 ± 3,8 до 81,6 ± 5,4 % випадків. Кількість проб молока, які були контаміновані бактеріофагами, що здатні лізувати молочнокислі бактерії закваски *Coltura di fermenti lattici selezionati* була в середньому 56,0 ± 5,2 %, тобто в 1,3 раза менша кількість, ніж у заквасці №1. З молока-сировини на молочному заводі №3 виділялися в середньому 55 – 75 % проб літично активні бактеріофаги, які лізували молочнокислі бактерії закваски *Tvorog*. Великий відсоток контамінації молока-сировини бактеріофагами, які здатні лізувати молочнокислі заквасочні культури, вказує на те, що молоко необроблене є екологічною нішою для існування фагів у природних умовах. До того ж молоко-сировина для молокопереробної галузі – основна сировина, тому існування бактеріофагів молочнокислих бактерій на підприємстві буде постійним явищем.

Було також визначено виживання бактеріофагів на поверхнях танків охолоджувачів молока-сировини після звільнення молока та застосування

СІР-миття відповідно до інструкції затвердженої на даних підприємствах. Встановлено, що кількість проб, які були контаміновані бактеріофагами активними до молочнокислих бактерій заквасок, була значно нижча, ніж за обсягання молока-сировини. Зокрема, зі змивів з танків-охолоджувачів, активні бактеріофаги виділялися з молочного заводу №1 в 17 – 23 % випадків, із змивів переробного підприємства №2 бактеріофаги виділялися в 20 – 25 % проб, а із №3 – в 23 – 33 %. Тобто приблизно в 3 – 4 рази менше контаміновані бактеріофагами поверхні танків-резервуарів для перетримування молока-сировини, ніж саме молоко. Це пояснюється тим, що санітарна обробка з використанням хімічних біоцидів згубно впливає на контамінацію бактеріофагами поверхонь ємностей зі зберігання молока і суттєво зменшує частоту їх виявлення.

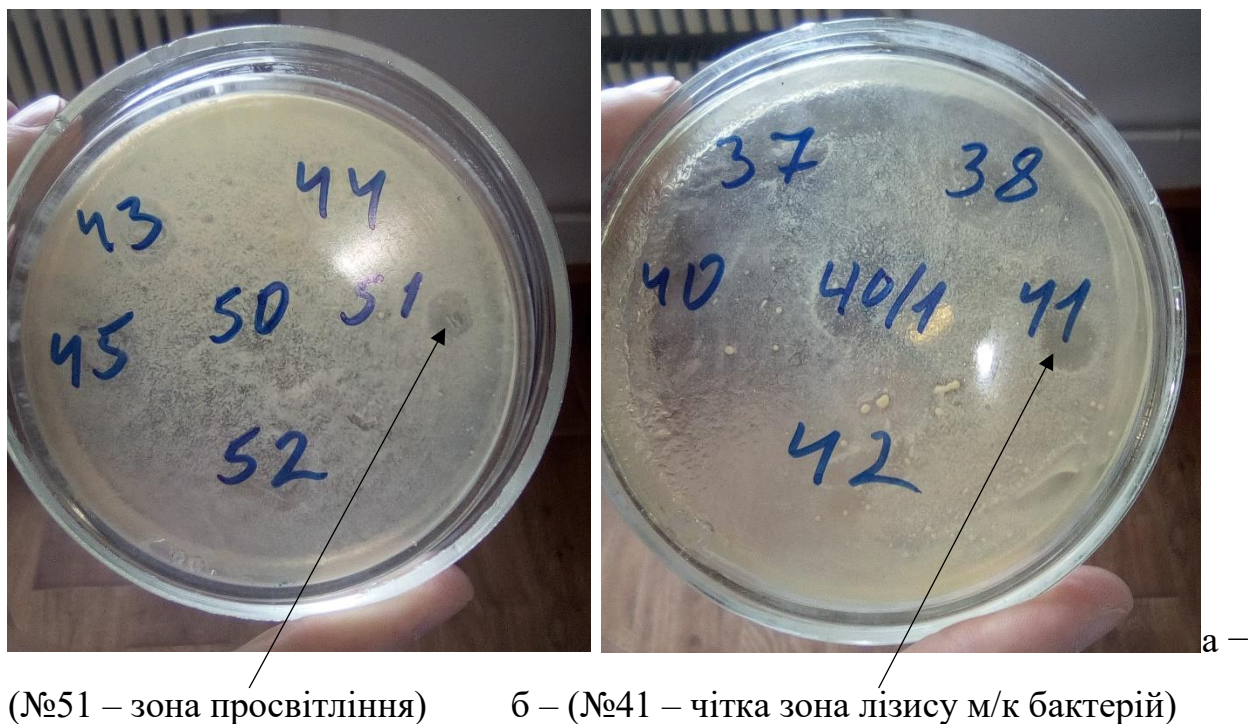
Водночас, виявлено таку саму тенденцію щодо стійкості молочнокислих бактерій заквасок до виділених бактеріофагів, як і при дослідженні молока-сировини. Зокрема, молочнокислі бактерії закваски *Coltura di fermenti lattici selezionati* найменш піддавалися лізису за дії фагів наявних у змивах. В середньому в 1,3 раз виявлено менше позитивних змивів із вмістом літичних бактеріофагів до бактерій закваски *Coltura di fermenti lattici selezionati*, ніж до бактерій закваски *DelvoFresh SC-603*.

На рис. 3.1 (а, б) наведено фотографії наших досліджень з визначення частоти виявлення бактеріофагів у змивах та молоці-сировині. Видно чіткі зони лізису молочнокислих бактерій на чашці Петрі за розвитку чутливого до даної бактерії фагу.

Отже, дослідження виявлено, що молоко-сировина містить бактеріофаги, які здатні лізувати молочнокислі бактерії, які входять у склад заквасок для виробництва кисломолочного сиру (*DelvoFresh SC-603*, *Coltura di fermenti lattici selezionati*, *Tvorog*). Кількість позитивних проб молока сировини з вмістом бактеріофагів, які лізували дані бактерії заквасок становила від 50 до 80 %. Водночас у змивах з танків-охолоджувачів для резервування молока-сировини після санітарної обробки літичні



бактеріофаги до даних заквасочних культур виділялися в 3 – 4 рази рідше, ніж із молока-сировини.



**Рис. 3.1 (а, б). Наявність лізогенних фагів у змивах з технологічного обладнання виробництва кисломолочного сиру**

Крім частоти виявлення бактеріофагів у молоці-сировині та змивах з танків для резервування молока нами визначено кількість бактеріофагів в 1 мл молока та змиву відібраного з поверхні ємності. Адже саме кількісна характеристика контамінації літичними бактеріофагами молока і поверхонь є основою для застосування відповідних профілактичних заходів. При цьому вважається, що якщо у змивах з обладнання після санітарної обробки вміст літичних фагів, які руйнують бактеріальні клітини переважає кількість  $10^3$  БУО/мл, то необхідно запроваджувати посилені санітарно-гігієнічні заходи з миття, дезінфекції та стерилізації. У випадку виявлення кількості бактеріофагів більше  $10^5$  БУО/мл змиву, то необхідно на декілька днів зупинити роботу цеху з виробництва кисломолочних продуктів і провести ретельний контроль циркуляції фагів та вирішення шляхів їх зниження і мінімізації потрапляння на обладнання та заквашувальні суміші.

Результати досліджень вмісту фагів в молоці-сировині та на внутрішній поверхні танка-резервуара молока на різних молокопереробних підприємствах наведено в табл. 3.2.

Таблиця 3.2

**Кількісний вміст бактеріофагів молочнокислих бактерій у молоці-сировині на переробних підприємствах,  $M \pm m$ ,  $n=3$**

Об'єкт дослідження	Назва закваски		
	№1 ( <i>DelvoFresh</i> <i>SC-603</i> )	№2 ( <i>Coltura di fermenti</i> <i>lacttici selezionati</i> )	№3 ( <i>Tvorog</i> )
	Кількість бактеріофагів БУО/мл молока / змиву		
Підприємство №1			
Молоко-сировина (танк №1)	$2,4 \pm 0,2 \times 10^3$	$1,3 \pm 0,1 \times 10^4$	$5,6 \pm 0,2 \times 10^3$
Змив з танку №1	$8,8 \pm 0,2 \times 10^1$	$3,9 \pm 0,3 \times 10^1$	$4,7 \pm 0,2 \times 10^1$
Підприємство №2			
Молоко-сировина (танк №2)	$3,6 \pm 0,3 \times 10^4$	$6,1 \pm 0,3 \times 10^3$	$5,5 \pm 0,3 \times 10^4$
Змив з танку №2	$1,5 \pm 0,1 \times 10^2$	$6,4 \pm 0,2 \times 10^1$	$7,7 \pm 0,3 \times 10^1$
Підприємство №3			
Молоко-сировина (танк 3)	$3,7 \pm 0,2 \times 10^4$	$8,8 \pm 0,4 \times 10^3$	$7,2 \pm 0,3 \times 10^4$
Змив з танку №3	$5,6 \pm 0,3 \times 10^2$	$3,9 \pm 0,2 \times 10^1$	$8,4 \pm 0,2 \times 10^1$

З аналізу даних табл. 3.2 відмічається значно більший вміст бактеріофагів у молоці-сировині, порівнюючи зі змивами з танків-резервуарів молока. Зокрема у молоці-сировині кількість літичних фагів до заквасочних культур молочнокислих бактерій становила  $10^3 - 10^4$  БУО/мл. При цьому не виявлено суттєвої різниці щодо кількості бактеріофагів у молоці між окремими переробними підприємствами, так і щодо

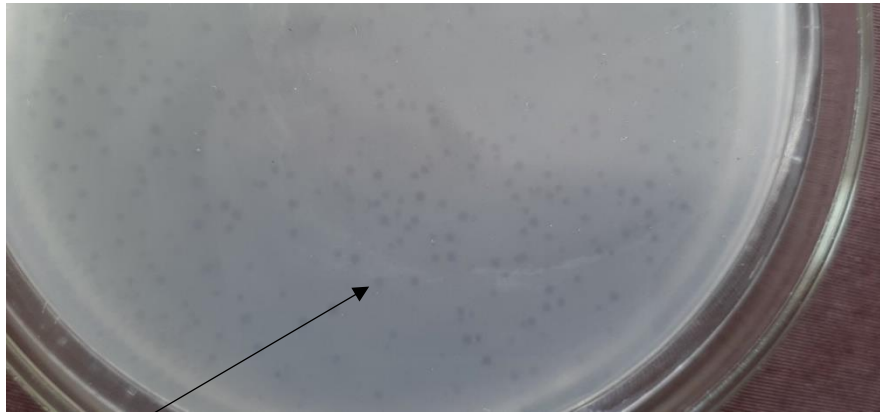
використання різних заквасок. Це дає підставу вважати, що саме молоко-сировина є біотопом найбільшого різномайття фагів, оскільки наявні у ньому бактеріофаги лізували молочнокислі бактерії різних заквасок для кисломолочного сиру.

У змивах з поверхонь резервуарів для молока виділялися бактеріофаги у меншій кількості, ніж з молока-сировини. Так, у змивах підприємства №1 кількість бактеріофагів була найменша до молочнокислих культур закваски *Coltura di fermenti lattici selezionati* і становила  $3,9 \pm 0,3 \times 10^1$  БУО/мл, а найбільше до культур закваски *DelvoFresh SC-603* –  $8,8 \pm 0,2 \times 10^1$  БУО/мл. Тобто в 2,2 рази менше літичних фагів було до бактерій закваски *Coltura di fermenti lattici selezionati*, ніж до бактерій закваски *DelvoFresh SC-603* та в 1,9 рази менше, ніж до мікроорганізмів закваски *Tvorog*.

У змивах з резервуарів для молока молокопереробних підприємств №2 і №3 кількість літичних фагів до молочнокислих бактерій була практично аналогічна, як у підприємстві №1. При цьому закономірність щодо найвищої стійкості молочнокислих культур закваски *Coltura di fermenti lattici selezionati* до циркулюючих бактеріофагів в змивах зберігалася і на даних підприємствах. Виявлення активних літичних бактеріофагів у змивах з танків-резервуарів, хоч і у незначній кількості, на нашу думку пов'язано з тим, що фаги за своєю природою відносяться до стійких мікроорганізмів. За даними багатьох дослідників [75, 76], вони витримують дезінфікуючу дію більшості біоцидних препаратів, які застосовуються у молочній промисловості. При цьому дослідники [75, 76] вказують, що дезінфікуючі засоби на основі гіпохлорит натрію, етанолу і ізопропанолу, четвертинноамонієвих сполук, які зазвичай використовуються для очищення і дезінфекції поверхонь і посуду, значно менш ефективні в інактивації вірусів. Водночас добре себе проявляють відносно знезаражуючої дії щодо бактеріофагів – це дезінфікуючі засоби на основі перекису водню, пероцтової та надоцтової кислот у рекомендованих концентраціях. Тим не менше, нині на вітчизняних молокопереробних підприємствах практично не перевіряють

активність застосованих дезінфікуючих препаратів щодо найбільш циркулюючих бактеріофагів молочнокислих мікроорганізмів. Власне це одна із причин, яка призводить до формування фагової інфекції під час технологічного процесу з виробництва кисломолочного сиру.

На рис. 3.2 наведено фотографію чашки Петрі з ростом бактеріофагів молочнокислих мікроорганізмів під час визначення їх кількості.



Зони лізису бактерій під час розвитку фагу

**Рис. 3.2. Визначення кількості фагів у пробах з технологічного обладнання**

З рис. 3.2 видно точки лізису молочнокислих бактерій, так звані бляшкоутворюючі одиниці (БУО). Проводиться підрахунок кількості таких БУО при посів 1 мл субстрату або його розведень.

Загалом відмічаємо, що у молоці-сировині кількісь літичних бактеріофагів до молочнокислих бактерій заквасок (*DelvoFresh SC-603*, *Coltura di fermenti lattici selezionati* та *Tvorog*) становить від  $2,4 \pm 0,2 \times 10^3$  БУО/мл до  $7,2 \pm 0,3 \times 10^4$  БУО/мл, що практично на два порядки більше, порівнюючи з кількістю в змивах з танків-резервуарів для молока-сировини. Враховуючи даний факт, можна запропонувати на даних підприємствах перевірити активність використаних дезінфікуючих засобів до бактеріофагів молочнокислих мікроорганізмів, а також систематично проводити моніторинг циркуляції фагів на різних об'єктах включаючи і приймання молока.

### 3.3. Визначення контамінації бактеріофагами сквашувальної суміші, готового продукту під час виробництва кисломолочного сиру

Наступною частиною було провести дослідження з визначення рівня обсіяння бактеріофагами безпеосередньо в цеху з виробництва кисломолочного сиру, а саме враховуючи весь технологічний процес. При цьому ми зосередили свою увагу на ключових етапах виробництва кисломолочного сиру. Результати дослідження частота виділення фагів у кисломолочному цеху наведено в табл. 3.3.

Таблиця 3.3

#### Контамінація бактеріофагами сквашувальної суміші на кисломолочний сир у ферментаційній дільниці, $M \pm m$ , $n=3$

Об'єкт дослідження	Назва закваски		
	№1 ( <i>DelvoFresh</i> <i>SC-603</i> )	№2 ( <i>Coltura di fermenti</i> <i>lacttici selezionati</i> )	№3 ( <i>Tvorog</i> )
	Частота виділення фагів, %		
Підприємство №1			
Суміш до сквашування на сир к/м (9 %)	14,2 ± 1,1	8,7 ± 0,5	10,1 ± 0,4
Суміш після сквашування на сир к/м (9 %)	18,5 ± 0,5	11,2 ± 0,4	14,4 ± 0,4
Сир к/м (9 %)	19,9 ± 0,4	14,0 ± 0,3	15,2 ± 0,3
Підприємство №2			
Суміш до сквашування на сир к/м (9 %)	18,4 ± 0,9	13,6 ± 0,5	15,2 ± 0,6
Суміш після сквашування на сир к/м (9 %)	21,9 ± 1,3	15,2 ± 1,1	18,4 ± 1,5

Сир к/м (9 %)	23,4 ± 1,7	19,1 ± 1,5	20,8 ± 1,6
Підприємство №3			
Суміш до сквашування на сир к/м (9 %)	11,9 ± 0,7	9,8 ± 0,3	13,6 ± 0,5
Суміш після сквашу- вання на сир к/м (9 %)	14,6 ± 0,6	12,4 ± 0,5	15,8 ± 0,4
Сир к/м (9 %)	15,7 ± 0,5	14,2 ± 0,6	17,3 ± 0,5

З даних табл. 3.3 видно, що частота виділення бактеріофагів на підприємстві №1 з суміші до сквашування на сир кисломолочний найбільша була до заквасочних культур *DelvoFresh SC-603* і становила  $14,2 \pm 1,1$  %. В 1,6 раз менше, порівнюючи з першою закваскою, виділяли літичні бактеріофаги з даної суміші при використанні закваски *Coltura di fermenti lactici selezionati* –  $8,7 \pm 0,5$  %, та в  $10,1 \pm 0,4$  % випадків виділяли активні фаги до молочнокислих бактерій закваски *Tvorog*.

Після процесу сквашування за допомогою даних заквасок із сквашеної суміші частота виділення бактеріофагів була більша, порівнюючи із сумішю до сквашування. Зокрема за використання закваски *DelvoFresh SC-603* та *Coltura di fermenti lactici selezionati* кількість позитивних проб з наявністю фагів збільшилася в 1,3 раза до  $18,5 \pm 0,5$  та  $11,2 \pm 0,4$  %, відповідно. За частотою виявлення бактеріофагів, найбільше зростання в заквашеній суміші їх спостерігали при використанні закваски *Tvorog* – в 1,4 раза. Це вказує, що під час процесу сквашування відбувався процес розвитку фагової інфекції, водночас найінтенсивніше при використанні закваски *Tvorog*. Розвиток бактеріофагів найінтенсивніше відбувається під час перемішування суміші для заквашування і наявності великої кількості клітин господарів. Такий процес добре складається під час заквашування, оскільки клітини молочнокислих бактерій уданий період перебувають в логарифмічній фазі росту. Водночас у готовому продукті інтенсивність фагової інфекції не є такою небезпечною, оскільки не відбувається перемішування продукту, а

отже і контакту вивільнених вірусів з бактеріальними клітинами. Однак, у наших дослідженнях за використання трьох заквасок у готовому продукті – сирі кисломолочному бактеріофаги виділялися  $14,0 \pm 0,3$  % випадків за використання закваски *Coltura di fermenti lacttici selezionati* та найчастіше за використання закваски *DelvoFresh SC-603* ( $19,9 \pm 0,4$  %).

Аналогічна динаміка змін розвитку фагової інфекції спостерігалася на двох інших молокопереробних підприємствах за використання даних заквасок. Водночас частіше, як в 20 % випадків від досліджених проб бактеріофаги не виділяли із заквашувальної суміші.

Отже, з дослідю відмічаємо, що в процесі технології сквашування суміші на кисломолочний сир можливий розвиток літичних фагів активних щодо молочнокислих бактерій наявних у заквасках. При цьому встановлено зростання в середньому в 1,3 раза частоти виявлення літичних бактеріофагів із сквашеної суміші, порівнюючи з частотою виявлення у суміші до заквашування.

Важливу складову для системного вивчення фагової інфекції за технології виробництва кисломолочного сиру становили дослідження з визначення кількісної динаміки збільшення фагів молочнокислих бактерій. Результати даного дослідження наведено в табл. 3.4.

Таблиця 3.4

**Кількісний вміст бактеріофагів у сквашувальній суміші на кисломолочний сир у ферментаційній дільниці,  $M \pm m$ ,  $n=3$**

Об'єкт дослідження	Назва закваски		
	№1 ( <i>DelvoFresh SC-603</i> )	№2 ( <i>Coltura di fermenti lacttici selezionati</i> )	№3 ( <i>Tvorog</i> )
	Кількість бактеріофагів БУО/мл		
Підприємство №1			
Суміш до сквашування на сир к/м (9 %)	$1,8 \pm 0,1 \times 10^1$	$2,2 \pm 0,1 \times 10^1$	$2,5 \pm 0,1 \times 10^1$

Суміш після сквашування на сир к/м (9 %)	$9,8 \pm 0,2 \times 10^{1*}$	$9,6 \pm 0,1 \times 10^{1*}$	$2,3 \pm 0,1 \times 10^{2*}$
Сир к/м (9 %)	$2,3 \pm 0,1 \times 10^2$	$9,8 \pm 0,2 \times 10^1$	$5,4 \pm 0,1 \times 10^2$
Підприємство №2			
Суміш до сквашування на сир к/м (9 %)	$5,5 \pm 0,1 \times 10^1$	$3,6 \pm 0,1 \times 10^1$	$7,8 \pm 0,1 \times 10^1$
Суміш після сквашування на сир к/м (9 %)	$4,7 \pm 0,2 \times 10^2$	$2,7 \pm 0,2 \times 10^2$	$3,5 \pm 0,2 \times 10^2$
Сир к/м (9 %)	$8,5 \pm 0,1 \times 10^2$	$4,6 \pm 0,1 \times 10^2$	$6,4 \pm 0,1 \times 10^2$
Підприємство №3			
Суміш до сквашування на сир к/м (9 %)	$3,8 \pm 0,1 \times 10^1$	$2,7 \pm 0,1 \times 10^1$	$2,6 \pm 0,1 \times 10^1$
Суміш після сквашування на сир к/м (9 %)	$8,5 \pm 0,2 \times 10^2$	$8,5 \pm 0,1 \times 10^2$	$8,1 \pm 0,2 \times 10^2$
Сир к/м (9 %)	$3,1 \pm 0,1 \times 10^3$	$1,1 \pm 0,1 \times 10^3$	$9,8 \pm 0,1 \times 10^2$

Примітка \* –  $p \geq 0,05$  – щодо кількості до сквашування

З результатів табл. 3.4 спостерігається, що на всіх молокопереробних підприємствах з суміші до заквашування вміст бактеріофагів до заквасочних культур взятих у дослід не перевищував кількість  $10^1$  БУО/мл. Така кількість вважається не значною за технології виробництва кисломолочного сиру. Разом з тим протягом технології сквашування створюються сприятливі умови для розвитку фагової інфекції, оскільки саме у даний період технологічного процесу відбувається активне зростання (розмноження) молочнокислих бактерій, які є господарями для розмноження фагів. При цьому чим більша кількість буде в середовищі потенціно цільових клітин бактерій, тим створюється кращі можливості для контакту бактерії з фагом. До того ж технологія виробництва сиру кисломолочного вважається найсприятливішою для розвитку фагів, порівнюючи з технологіями виробництва інших кисломолочних продуктів (кефір, йогурт, тощо). Через те



що технологічний процес виробництва кисломолочного сиру є набагато триваліший за інші, кисломолочні продукти, а отже збільшується час для можливого контакту фагу з молочнокислими бактеріями; у даному технологічному процесі можуть застосовувати солі хлористого кальцію, які є стимуляторами росту бактеріофагів; застосування частого перемішування, також вважається сприятливим чинником для інтенифікації фагової інфекції; крім того утворена сироватка, яка має кисле середовище є сприятливою умовою розвитку бактеріофагу.

Після закінчення процесу сквашування у сквашеній кисломолочній суміші переробного підприємства №1 відмічали зростання кількості бактеріофагів за використання різних заквасочних культур від 4,4 до 9,2 рази ( $p \geq 0,05$ ), порівнюючи до початкової кількості. У пробах готового сиру кисломолочного вміст літичних фагів суттєво не збільшився, однак їх кількість становила в середньому  $10^2$  БУО/мл.

При дослідженні фагової інфекції за технології сквашування на молокопереробному підприємстві №2 встановлено, що у суміші після сквашування кількість бактеріофагів збільшилася приблизно на один порядок і становила від  $2,7 \pm 0,2 \times 10^2$  до  $8,5 \pm 0,1 \times 10^2$  БУО/мл, а в готовому кисломолочному сирі вміст бактеріофагів реєстрували ще, в середньому в 2 рази більше, ніж у суміші після заквашування. Це вказує на те, що за технології виробництва кисломолочного сиру найбільш важливий етап технологічного процесу на якому можуть активно розмножуватися бактеріофаги – це під час сквашування. Саме у даний період необхідно запровадити своєчасні додаткові методи контролю щодо застосування профілактичних заходів у разі розвитку фагової інфекції для недопущення виникнення вад продукту.

На молокопереробному підприємстві №3 розвиток бактеріофагів під час сквашування був притаманний динаміці, яка була притаманна для молочного заводу №2. Водночас у готовому кисломолочному сирі ми виявляли, в середньому  $1,1 \pm 0,1 \times 10^3$  БУО/г продукту.

Для організації дієвої системи запобігання розвитку фагової інфекції на молокопереробному підприємстві необхідно запроваджувати комплекс заходів з моніторингу їх на обладнанні, яке безпосередньо має контакт з сировиною та заквашувальною сумішю, гтовим продуктом та сироваткою. Результати дослідження контамінації бактеріофагами обладнання в цеху з виробництва кисломолочного сиру наведено в табл. 3.5

Таблиця 3.5

**Контамінація бактеріофагами технологічного обладнання та різних об'єктів у цеху з виробництва кисломолочного сиру,  $M \pm m$ ,  $n=3$**

Об'єкт дослідження	Назва закваски		
	№1 ( <i>DelvoFresh</i> <i>SC-603</i> )	№2 ( <i>Coltura di fermenti</i> <i>lacttici selezionati</i> )	№3 ( <i>Tvorog</i> )
	Частота виділення фагів, % Кількість бактеріофагів БУО/мл змиву		
Лінія подачі суміші	$9,3 \pm 0,5 \%$ $3,5 \pm 0,1 \times 10^1$	$7,3 \pm 0,3 \%$ $3,8 \pm 0,1 \times 10^1$	$10,6 \pm 1,1 \%$ $4,5 \pm 0,2 \times 10^1$
Лінія подачі сироватки	$17,2 \pm 1,1 \%$ $7,8 \pm 0,2 \times 10^2$	$15,3 \pm 0,8 \%$ $6,7 \pm 0,2 \times 10^2$	$22,3 \pm 1,4 \%$ $5,1 \pm 0,1 \times 10^2$
Бак для сироватки	$18,4 \pm 1,2 \%$ $8,3 \pm 0,1 \times 10^2$	$17,9 \pm 0,6 \%$ $5,8 \pm 0,2 \times 10^2$	$23,8 \pm 1,5 \%$ $2,4 \pm 0,1 \times 10^2$
Мішалка	$8,1 \pm 0,4 \%$ $5,2 \pm 0,1 \times 10^1$	$5,1 \pm 0,4 \%$ $6,2 \pm 0,1 \times 10^1$	$10,5 \pm 0,8 \%$ $6,2 \pm 0,1 \times 10^1$
Стрічка фасувального автмат	$7,4 \pm 0,7 \%$ $7,7 \pm 0,1 \times 10^1$	$6,7 \pm 0,4 \%$ $8,9 \pm 0,1 \times 10^1$	$9,7 \pm 0,7 \%$ $5,1 \pm 0,2 \times 10^1$
Фасувальний стіл	$9,3 \pm 0,6 \%$ $7,7 \pm 0,1 \times 10^1$	$5,9 \pm 0,3 \%$ $8,9 \pm 0,1 \times 10^1$	$9,8 \pm 1,2 \%$ $3,5 \pm 0,1 \times 10^1$

У даній таблиці наведено дані щодо частоти виявлення бактеріофагів молочнокислих бактерій з поверхні обладнання та їх кількісний вміст на

ньому. Змиви з обладнання відбирали після завершення СІР-миття та їх споліскування водою.

Встановлено (табл. 3.5), що контамінація бактеріофагами обладнання має певну тенденцію, яка зводиться до того, що поверхні, які безпосередньо контактують зі сироваткою були у більшій мірі забруднені літичними бактеріофагами молочнокислих бактерій. Зокрема, з поверхонь лінії подачі сироватки та бачка для сироватки, частота виявлення бактеріофагів до заквасочних культур становила від 15 до 25 %. Інше обладнання (лінія подачі суміші, мішалка, фасувальний стіл та апарати (фасувальний апарат) були в меншій мірі контаміновані активними фагами. Зокрема з їх поверхонь бактеріофаги виділялися не більше як в 10 % випадків від досліджених проб, тобто в 1,5 – 2,0 раза рідше, ніж з обладнання, яке безпосередньо не контактує з сироваткою. Отримані дані підтверджують результати інших дослідників [28], що об'єкти, які забруднені сироваткою частіше є причиною розвитку фагів молочнокислих мікроорганізмів, оскільки вона являється дуже сприятливим середовищем для їх існування. Тому першочерговим завданням для профілактики розвитку бактеріофагів під час виробництва кисломолочного сиру являється попередження розбризкування сироватки в цеху та зберігання її у закритих ємкостях, ретельна дезінфекція даного обладнання після звільнення від сироватки.

Відносно кількісного обсіменіння вище згадуваних об'єктів бактеріофагами молочнокислих мікроорганізмів закваски, то тенденція зберігається аналогічна. Найвища кількість бактеріофагів спостерігалася на поверхнях лінії подачі сироватки та баці для сироватки – від  $2,4 \pm 0,1 \times 10^2$  до  $8,3 \pm 0,1 \times 10^2$  БУО/мл змиву. У той же час, як з такого обладнання як лінія подачі суміші, мішалка, фасувальний стіл, стрічка фасувального автомату кількість бактеріофагів була практично на один порядок менша і не перевищувала  $10^1$  БУО/мл.

Отже, підсумовуючи дане дослідження необхідно відзначити, що в цеху з виробництва кисломолочного сиру технологічне обладнання

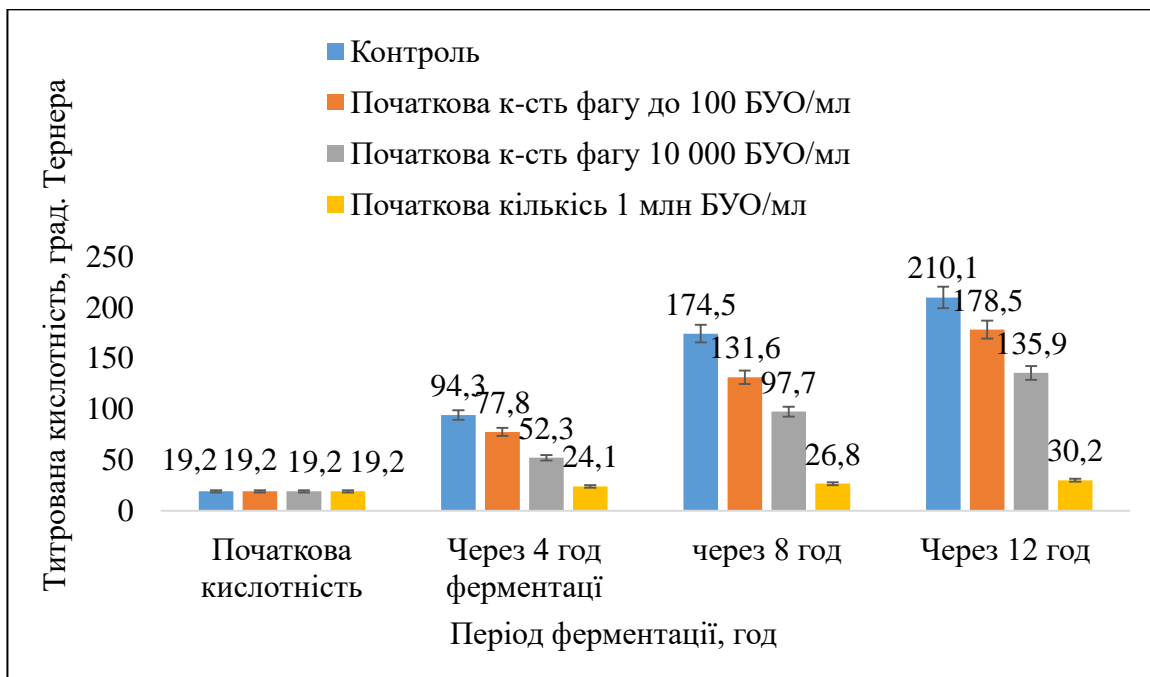
приблизно в 15 – 25 % контаміноване літичними бактеріофагами, які лізують заквасочні культури. Водночас, вміст бактеріофагів на промисловому обладнанні не перевищувала кількість у  $10^2$  БУО/мл змиву, що вважається задовільним для виробничого процесу у кисломолочному цеху.

### **3.4. Моделювання процесу вплив різної кількості бактеріофагів на технологічний процес виробництва кисломолочного сиру**

Наступним етапом даного дослідження було провести експериментальне моделювання процесу розвитку фагової інфекції за виробництва кисломолочного сиру у лабораторних умовах з різною початковою кількістю фагів активних щодо заквасочних штамів бактерій у суміші для сквашування. Дослід проведено у три серії: у першій серії досліді вносили поряд із закваскою *DelvoFresh SC-603* літично активні фаги у кількості  $10^2$  БУО на 1 мл суміші для сквашування; у другій серії досліді кількість фагів становила  $10^4$  БУО на 1 мл суміші для сквашування; у третій серії –  $10^6$  БУО на 1 мл суміші для сквашування. У пробах трьох серій досліді визначали показники, які вказують на молочнокислий процес та кількість фагів (титровану кислотність, кількість молочнокислих бактерій та фагів. Результати даних дослідів наведено на рис.3.3 – 3.5.

Виявлено (рис. 3.3), що у контрольній пробі, яку не контамінували бактеріофагом величина тированої кислотності під час ферментації проходила відповідно до показників технологічної інструкції, тобто поступово зростала і через 8 год ферментації становила  $174,5 \pm 2,1$  °Т. За такої кислотності кисломолочного сиру він відповідає вимогам стандарту [83]. Інша ситуація відбувалася за контамінації суміші до сквашування бактеріофагом. Зокрема, за незначного початкового обсіменіння суміші (до 100 фагів в мл), кисломолочний процес проходив, але з деякою затримкою накопичення кислоти. Так як через ферментації кислотність суміші була на  $16,5 \pm 0,8$  °Т менша, ніж у контролі без вірусу. Через 8 год у дослідній пробі

вона становила  $131,6 \pm 1,4$  °Т і була на  $42,9$  °Т менша за величину у контролі. На 12 год ферментації кислотність досягла значень для кисломолочного сиру не нижче  $170$  °Т. Тобто за початкового обсіменіння літичними фагами у кількості  $10^2$  БУО/мл суміші до сквашування, ферментація уповільнюється і час для досягнення необхідної кислотності збільшується з 8 год до 12 год.

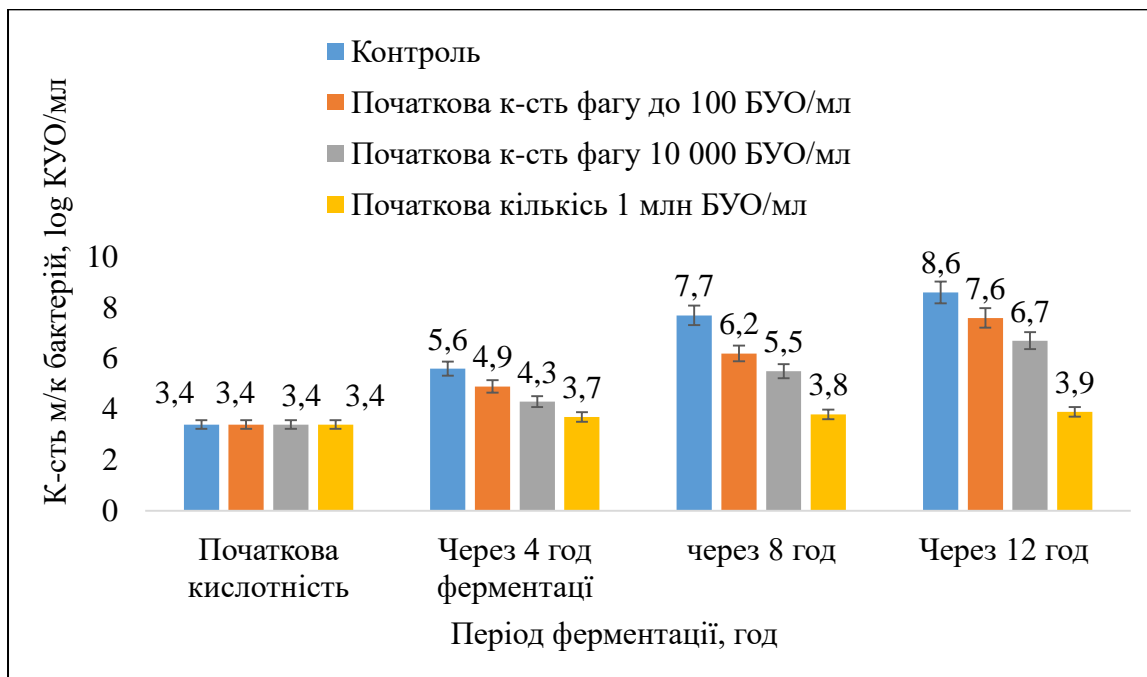


**Рис. 3.3. Зміна титрованої кислотності за ферментації суміші на кисломолочний сир з різним початковим вмістом літичних фагів молочнокислих бактерій**

У дослідному зразку з початковим зараженням бактеріофагом суміші до сквашування  $10^4$  БУО/мл інтенсивність молочнокислого процесу суттєво уповільнювалася порівнюючи з контрольним зразком без фагу. Зокрема через 8 год ферментації кислотність у даному зразку становила  $97,7 \pm 1,2$  °Т, тобто на  $76,8 \pm 0,5$  °Т менша, ніж у контролі. Це вказує, що бактеріофаги почали розмножуватися у клітинах молочнокислих бактерій, а відповідно проявлялася менша їх біохімічна активність з ферментації цукрів. Як наслідок навіть на 12 год сквашування кислотність не відповідала показникам заявленим в стандарті і становила  $135,9 \pm 1,4$  °Т, тобто для отримання кисломолочного сиру необхідно подовжити час ферментації.

За початкового внесення бактеріофагів  $10^6$  БУО в мл суміші до сквашування молочнокислий процес практично не відбувався, оскільки навіть через 12 год ферментації кислотність не піднімалася вище  $30\text{ }^\circ\text{T}$ .

На рис. 3.4 наведено динаміку розмноження молочнокислих бактерій у дослідних зразках з літичним фагом та в контролі.

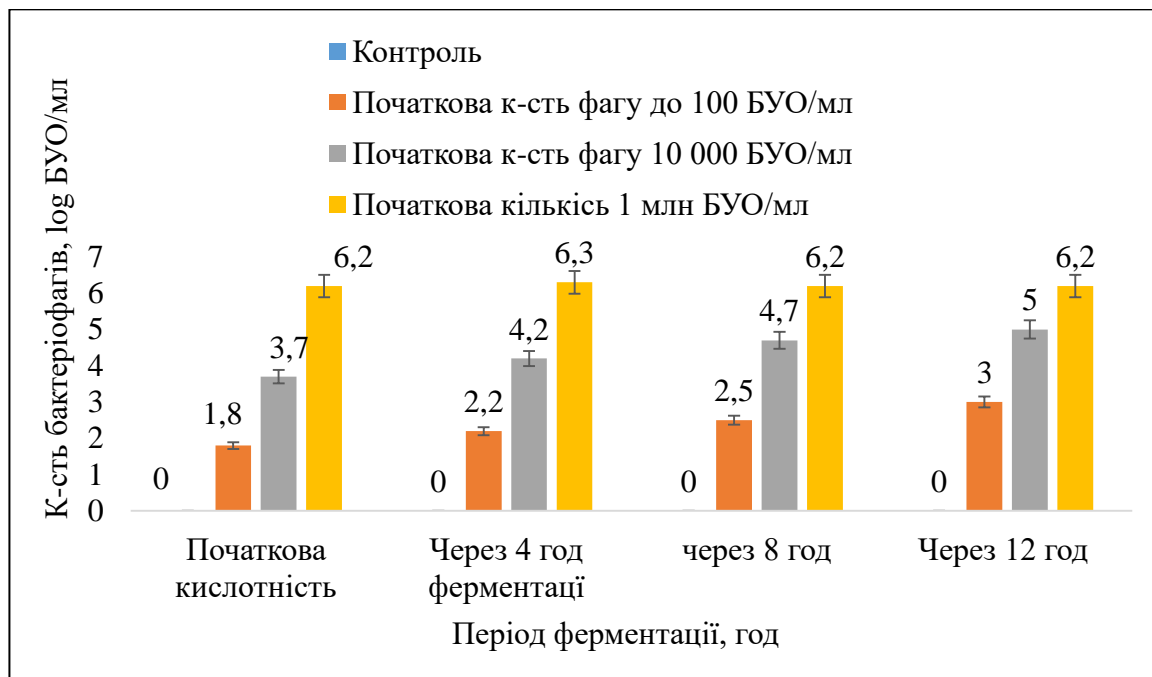


**Рис. 3.4. Зміна молочнокислих бактерій за ферментації суміші на кисломолочний сир з різним початковим вмістом літичних фагів активних щодо заквасочних культур**

З рис. 3.4 бачимо, що молочнокислі бактерії активно збільшувалися у контрольному зразку без інфікування його фагом і через 8 год ферментації їх вміст становив  $7,7\text{ log БУО/мл}$ , що цілком забезпечує нормативну кількість згідно ДСТУ [83]. Тому подальше сквашування суміші не є доцільним. Однак у пробах з вмістом фагу динаміка збільшення молочнокислих бактерій залежала від кількісного вмісту бактеріофагу, і чим більший був потаковий вміст вірусу, тим повільніше збільшувалася їх кількість. Так, у пробі з початковою кількістю фагу  $10^2$  БУО/мл кількість молочнокислих бактерій досягла нормативного значення через 12 год ферментації, тобто на 4 години пізніше, ніж у контролі.

У зразку з початковою кількістю фагу  $10^6$  БУО/мл процес збільшення заквасочних культур не відбувався, що вказує на руйнування молочнокислих бактерій під впливом бактеріофагу.

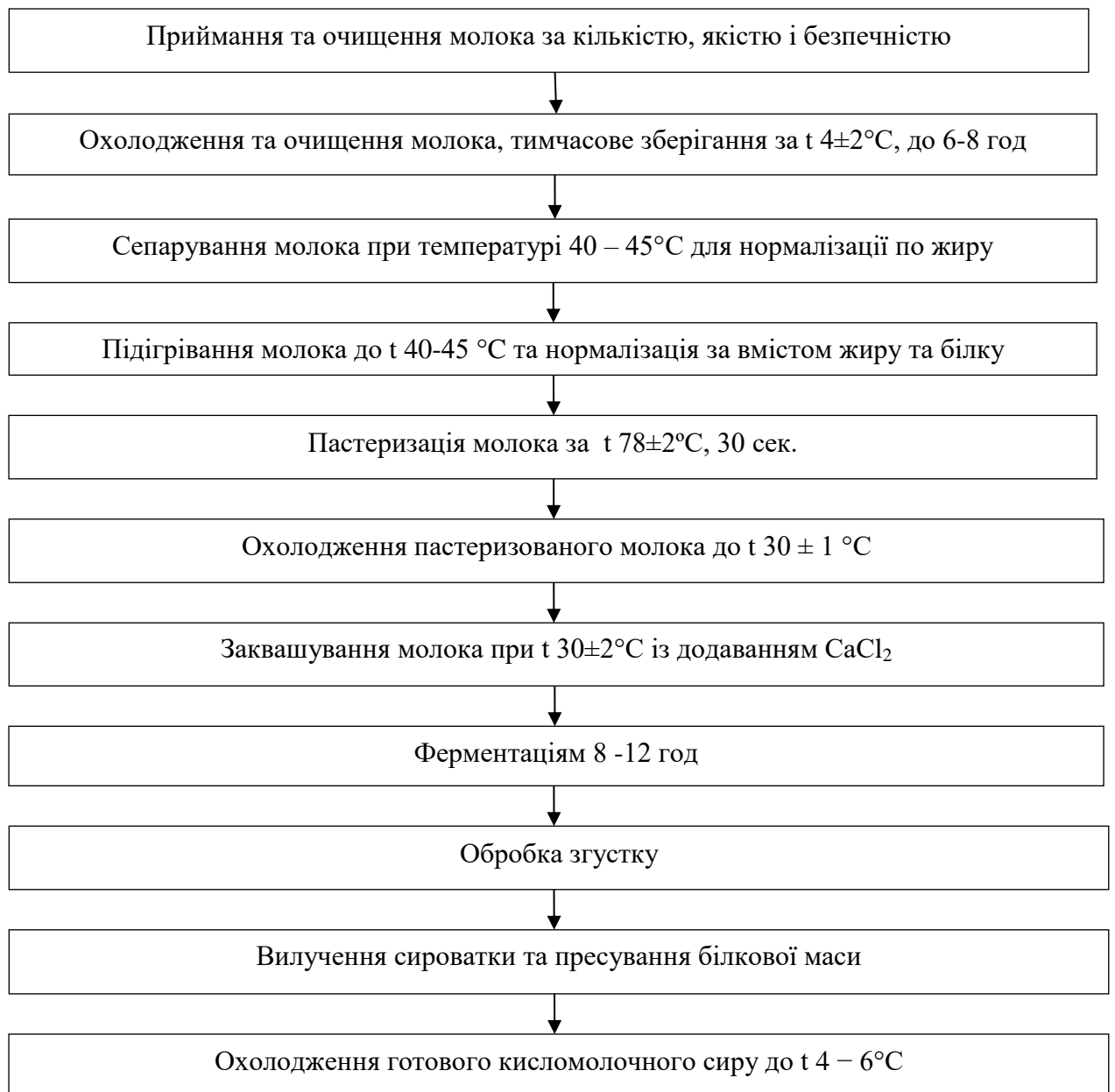
На рис. 3.5 показано інтенсивність розвитку фагової інфекції у пробаз з різним початковим забрудненням суміші до сквашування.



**Рис. 3.5. Зміна бактеріофагів за ферментації суміші на кисломолочний сир з різним початковим вмістом**

З рис. 3.5 видно, що інтенсивність розвитку фагу чітко корелює з розвитком молочнокислого процесу під час сквашування сировини, тобто у випадку розвитку фагу літичного до штамів наявних у заквасці процес сквашування або припинеться або збільшиться тривалість виробництва ферментованого продукту.

Загалом, підсумовуючи необхідно відмітити, що у випадку зараження молочної суміші до заквашування літичним бактеріофагом у кількості більше  $10^2$  БУО/мл тривалість процесу виробництва суттєво зросте, або повністю зупиниться ферментація за участі молочнокислих бактерій. Тому ми пропонуємо технологічну схему виробництва кисломолочного сиру, яка має включати обов'язковий моніторинг циркуляції фагів у цеху виробництва 1 раз в квартал.



**Рис. 3.6. Схема технологічного процесу виробництва кисломолочного сиру**



## ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ

1. Встановлено, що молоко-сировина містить бактеріофаги, які здатні лізувати молочнокислі бактерії, які входять у склад заквасок для виробництва кисломолочного сиру (*DelvoFresh SC-603*, *Coltura di fermenti lattici selezionati*, *Tvorog*). Кількість позитивних проб молока сировини з вмістом бактеріофагів, які лізували мікробні культури заквасок становила від 50 до 80%.

2. У молоці-сировині кількість літичних бактеріофагів до молочнокислих бактерій заквасок (*DelvoFresh SC-603*, *Coltura di fermenti lattici selezionati* та *Tvorog*) становила від  $2,4 \pm 0,2 \times 10^3$  БУО/мл до  $7,2 \pm 0,3 \times 10^4$  БУО/мл, що практично на два порядки більше, порівнюючи з кількістю виявлених у змивах з танків-резервуарів для молока-сировини.

3. У процесі технології сквашування суміші на кисломолочний сир можливий розвиток літичних фагів активних щодо молочнокислих бактерій наявних у заквасках. Після сквашування кількість бактеріофагів збільшувалася приблизно на один порядок і становила від  $2,7 \pm 0,2 \times 10^2$  до  $8,5 \pm 0,1 \times 10^2$  БУО/мл, а в готовому кисломолочному сирі вміст бактеріофагів виявляли в середньому в 2 рази більше, ніж у суміші після заквашування.

4. У цеху з виробництва кисломолочного сиру технологічне обладнання приблизно в 15 – 25 % контаміноване літичними бактеріофагами, які лізують заквасочні культури. Водночас, вміст бактеріофагів на промисловому обладнанні не перевищувала кількість у  $10^2$  БУО/мл змиву, що вважається задовільним для виробничого процесу у кисломолочному цеху.

5. Під час моделювання процесу вплив різної кількості бактеріофагів на технологічний процес виробництва кисломолочного сиру встановлено, що у випадку зараження молочної суміші до заквашування літичним бактеріофагом у кількості більше  $10^2$  БУО/мл тривалість процесу виробництва суттєво зросте, або повністю зупиниться ферментація за участі

молочнокислих бактерій. Запропоновано проводити обов'язковий моніторинг циркуляції фагів у цеху виробництва кисломолочного сиру 1 раз в квартал.

## **РОЗДІЛ 4**

### **ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ**

#### **4.1. Охорона праці**

##### ***4.1.1. Техніка безпеки для недопущення травматизму на підприємствах харчової промисловості***

Електричні установки, до яких відноситься практично все обладнання, складають для людини велику потенційну небезпеку, так як під час експлуатації або проведенні профілактичних робіт людина може доторкнутися частин, що знаходяться під напругою. Специфічна небезпека електроустановок: струмоведучі провідники, корпуси ЕОМ і іншого обладнання, яке виявляється під напругою в результаті пошкодження ізоляції, не подають будь-яких сигналів, які б попереджували людину про небезпеку. Реакція людини на електричний струм виникає тільки при проходженні останнього через тіло людини. Винятково важливе значення для запобігання електротравматизму має правильна організація обслуговування наявного електрообладнання, проведення ремонтних, монтажних і профілактичних робіт. При цьому під правильною організацією розуміється суворе виконання ряду організаційних та технічних заходів і засобів, встановлених чинними «Правилами технічної експлуатації електрообладнання споживачів і правилами техніки безпеки при експлуатації електрообладнання споживачів». В залежності від категорії приміщення необхідно прийняти певні міри, які забезпечують достатню електробезпеку при експлуатації ремонті електрообладнання [89].

Так, в приміщеннях з підвищеною небезпекою електроінструменти, переносні світильники повинні бути виконані з подвійною ізоляцією або їхня напруга живлення не повинна перевищувати 42 В. В ОЦ до таких приміщень можуть бути віднесені приміщення машинного залу, приміщення

для розміщення сервісної і периферійної апаратури [90]. Кожна з одиниць технологічного обладнання повинна бути забезпечена попереджуючою сигналізацією. Всі попереджувальні таблички повинні виділятися на фоні обладнання і мати лаконічний зміст. Контрольно-вимірювальні прилади повинні бути справні, що підтверджується наявністю клейма про проходження атестації.

Підвищена увага робітників повинна бути при термічній обробці тари, сировини і консервів, митті тари, бланшуванні і уварюванні сировини. Дотримання перерахованих вище заходів дозволить створити безпечні умови праці і уникнути виробничого травматизму [89, 90].

#### *4.1.2. Особливості охорони праці неповнолітніх*

Більшість неповнолітніх влаштовуючись на роботу не знають про те, що вони користуються спеціальним комплексом прав, і деякі роботодавці цим користуються [90]. Тому одним із чинників реалізації норм охорони праці є інформування осіб, що не досягли повноліття про їх права, гарантії, умови праці через засоби масової інформації [90].

Кодекс законів про працю регламентує вік із якого допускається прийняття на роботу. Згідно статті 188 КЗпП не допускається прийняття на роботу осіб молодше 16 років. Але існують певні винятки з цього загального правила. Зокрема, у ч. 2 ст. 188 КЗпП вказано, що за згодою одного з батьків або особи, щойого замінює, можуть, прийматися на роботу особи, які досягли 15 років [91].

Для підготовки молоді до продуктивної праці допускається прийняття на роботу учнів загальноосвітніх шкіл, професійно-технічних і середніх спеціальних навчальних закладів для виконання легкої роботи, що не завдає шкоди здоров'ю і не порушує процесу навчання, у вільний від навчання час по досягненні ними чотирнадцятирічного віку за згодою одного з батьків або особи, що його замінює [91].

Усі особи молодше вісімнадцяти років приймаються на роботу лише після попереднього медичного огляду і в подальшому, до досягнення 21 року, щорічно підлягають обов'язковому медичному оглядові. При встановленні факту, що робота негативно впливає на здоров'я неповнолітнього, він негайно звільняється з цієї роботи і переводиться на більш легку роботу [88]. При переведенні неповнолітніх на підставі медичного висновку на більш легку, але нижче оплачувану роботу, за неповнолітнім протягом двох тижнів зберігається попередній заробіток (ч.1 ст.114 КЗпП).

Для додаткового захисту трудових прав неповнолітніх законодавством передбачаються обмеження звільнення таких працівників. Так, стаття 198 КЗпП передбачає, що звільнення працівників молодше вісімнадцяти років з ініціативи власника або уповноваженого ним органу допускається, крім додержання загального порядку звільнення, тільки за згодою служби у справах молоді. При цьому звільнення з підстав, зазначених в пунктах 1, 2 і 6 статті 40 КЗпП, провадиться лише у виняткових випадках і не допускається без працевлаштування [90].

Законодавством чітко встановлено межі робочого часу неповнолітніх. Для осіб у віці від 16 до 18 років – 36 годин на тиждень [89]. Тобто не більше 7 годин на день при 5-денному робочому тижню і 6 годин при 6-денному. Працівники віком 15-16 років, а також учні 14-15 років, що працюють під час канікул, можуть працювати по 24 години на тиждень. Тривалість робочого дня для таких осіб не може перевищувати 4 години на день при 6-денному робочому тижню і дорівнювати 5 годинам при 5-денному. Дещо іншим є робочий час для неповнолітніх, які працюють протягом навчального року. Тривалість їх робочого часу не повинна перевищувати половини відповідних максимальних норм скороченого робочого часу. Тобто, якщо працівнику 17 років і він працює під час навчання, то тривалість його робочого часу має бути не більшою 18 годин на

тиждень (максимально допустима для його віку 36 годин, відповідно половина – 18 годин) [89].

Неповнолітніх працівників забороняється залучати до нічних, надурочних робіт і до робіт у вихідні дні, а також до чергувань встановлених у деяких організаціях за розпорядженням роботодавця до початку або після закінчення робочого дня, у вихідні або святкові дні для підтримки порядку й оперативного рішення виникаючих невідкладних питань, що не відносяться до виробничої діяльності даної організації [90].

Відповідно до ЗУ «Про відпустки», для осіб віком до вісімнадцяти років встановлюється щорічна основна відпустка тривалістю 31 день. При цьому, якщо за загальним правилом право на щорічні основну та додаткові відпустки повної тривалості у перший рік роботи настає після закінчення шести місяців безперервної роботи на даному підприємстві, то для неповнолітніх таке право виникає до настання шестимісячного терміну безперервної роботи на такому підприємстві [89].

Заробітна плата працівникам молодше вісімнадцяти років при скороченій тривалості щоденної роботи виплачується в такому ж розмірі, як працівникам відповідних категорій при повній тривалості щоденної роботи. Тобто, скорочення робочого часу для неповнолітніх означає, що їх скорочений робочий час оплачується за тією ж тарифною ставкою (тим же посадовим окладом), що й нормальний робочий день дорослого працівника тієї ж спеціальності, кваліфікації та за інших рівних умов [89].

## **4.2. Безпека в надзвичайних ситуаціях**

### **4.2.1 Розробка заходів щодо захисту продуктів харчування від радіоактивного, хімічного і біологічного забруднення за допомогою тари**

Заходи для захисту продуктів харчування за допомогою тари, пакувальних та покривельних матеріалів. Щодо захисних властивостей тару поділяють на три категорії: вищу, першу та другу.

Тара вищої категорії забезпечує захист продуктів від радіоактивних, отруйних речовин, бактеріальних засобів. До такої тари належать залізні, скляні консервні банки, металеві місткості за умови їх герметичності, пакунки з покриттям типу тетрапак-септик, фляги.

Кришки цистерн для перевезення води повинні бути добре ущільненні прокладками, самі цистерни – мати чохла з прогумованої тканини на штуцерах заповнення та звільнення місткостей, кришки на горловинах та повітряний клапан [88].

Тара першої категорії захищає харчові продукти від зараження радіоактивного, та бактеріальних засобів, але не захищає від хімічно-отруйних речовин, хіба що зменшує їх інтенсивність. До тари першої категорії належать ящики картонні з вкладками із пергаменту, пакунки з покриттям типу тетрапак, фінпак та ін., туби алюмінієві та поліетиленові, комбіновані залізо-картонні банки, крафт-мішки з поліетиленовими вкладками та заклеєною горловиною.

Тара другої категорії – банки бляшані, ящики і бочки фанерні, банки поліетиленові, металеві із замковими кришками, багатошарові паперові мішки та ін. захищає харчові продукти тільки від радіоактивних речовин і зменшує дію отруйних хімічних речовин та бактеріальних засобів.

Таким чином, майже всі види тари та упаковки значною мірою захищають вміщені в них продукти від зараження, а забруднену зовнішню поверхню тари можна дезактивувати [91].

Продукція та сировина у негерметизованих приміщеннях у період загрози радіоактивного забруднення місцевості має бути захищена покриттям із брезенту або прогумованої тканини, крафт-паперу у 3~4 шари крім штабелів готової продукції, захисним покриттям вкривають штабелі тари.

Для захисту напівфабрикатів та продукції у цехах, сховищах повинні використовуватися всі наявні місткості та холодильні камери.

Ці заходи повинні здійснюватись за сигналами оповіщення цивільного захисту у разі тривалих перерв між змінами.

Захист продуктів та сировини під час транспортування забезпечується використанням спеціалізованого транспорту. При перевезенні продуктів транспортом загального користування, їх потрібно вкривати брезентом. Заражений транспорт перш ніж поставити до приймальної рампи заводу треба знезаразити на пунктах спеціальної оброблення [91].

Риба і рибопродукти перевозять без тари. Безпека безтарного перевезення забезпечується використанням герметичних контейнерів або спеціальних автомобілів – холодильників [91].

Своєчасний контроль стану навколишнього середовища сприяє проведенню ефективних заходів щодо захисту харчових продуктів та сировини на харчових підприємствах від радіоактивних, хімічно-отруйних речовин та бактеріальних забруднень.

Таким чином, під час виникнення надзвичайних ситуацій у мирний час потрібно негайно запроваджувати заходи, які мають на меті забезпечити захист запасів питної води, харчової сировини та напівфабрикатів і готової харчової продукції від зараження їх радіоактивними, сильнодіючими та отруйними речовинами і бактеріальними засобами. Для цього необхідно використовувати тару першої та другої категорії залежно від дії надзвичайної ситуації.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Vedamuthu, E.R., Washam C. (1983). Cheese, in: Reed G. (Ed.), *Biotechnology*, Verlag Chemie, Weinheim, Germany, 231–313.
2. Walther, B., Schmid, A., Sieber, R., & Wehrmüller, K. (2008). Cheese in nutrition and health. *Dairy Science and Technology*, 88(4-5), 389-405.
3. TOME, D., BOS, C., MARIOTTI, F., & GAUDICHON, C. (2002). Protein quality and FAO/WHO recommendations. *Sciences des aliments*, 22(4), 393-405.
4. Bachmann, H. P., Bütikofer, U., & Sieber, R. (2003). Über das Vorkommen von bioaktiven Peptiden in Käse. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, 94(2), 136-154.
5. Юкало, В. Г., & Дацишин, К. Є. (2019). Технологія низькоалергенного молока з гідролізатом білків сироватки. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені СЗ Гжицького*, 21(92 (2)), 14-18.
6. Sieber R., Zusammensetzung von Milch und Milchprodukten schweizerischer Herkunft, FAM-Information (2001) 1–23. Режим доступу: [http://www.db-alp.admin.ch/de/publikationen/docs/pub\\_SieberR\\_2001\\_15231.pdf](http://www.db-alp.admin.ch/de/publikationen/docs/pub_SieberR_2001_15231.pdf).
7. Willett, W. C. (2006). Trans fatty acids and cardiovascular disease—epidemiological data. *Atherosclerosis Supplements*, 7(2), 5-8.
8. Willett, W. C., Stampfer, M. J., Manson, J. E., Colditz, G. A., Speizer, F. E., Rosner, B. A., ... & Sampson, L. A. (1993). Intake of trans fatty acids and risk of coronary heart disease among women. *The Lancet*, 341(8845), 581-585.



9. Jakobsen, M. U., Overvad, K., Dyerberg, J., & Heitmann, B. L. (2008). Intake of ruminant trans fatty acids and risk of coronary heart disease. *International Journal of Epidemiology*, 37(1), 173-182.

10. Chardigny, J. M., Destailats, F., Malpuech-Brugère, C., Moulin, J., Bauman, D. E., Lock, A. L., ... & Sébédio, J. L. (2008). Do trans fatty acids from industrially produced sources and from natural sources have the same effect on cardiovascular disease risk factors in healthy subjects? Results of the trans Fatty Acids Collaboration (TRANSFACT) study. *The American journal of clinical nutrition*, 87(3), 558-566.

11. Hayes, K. C., & Pronczuk, A. (1991). Lindsey S, Diersen-Schade D. Dietary saturated fatty acids (12: 0, 14: 0, 16: 0) differ in their impact on plasma cholesterol and lipoproteins in nonhuman primates. *Am J Clin Nutr*, 53, 491-498.

12. Rioux, V., & Legrand, P. (2007). Saturated fatty acids: simple molecular structures with complex cellular functions. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 10(6), 752-758.

13. Salter, A. M., Mangiapane, E. H., Bennett, A. J., Bruce, J. S., Billett, M. A., Anderton, K. L., ... & White, D. A. (1998). The effect of different dietary fatty acids on lipoprotein metabolism: concentration-dependent effects of diets enriched in oleic, myristic, palmitic and stearic acids. *British Journal of Nutrition*, 79(2), 195-202.

14. German, J. B., & Dillard, C. J. (2004). Saturated fats: what dietary intake?. *The American journal of clinical nutrition*, 80(3), 550-559.

15. 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).

16. Кухтин, М. Д. (2008). Мікробіологічні нормативи ефективності технологій одержання молока сирого екстра-гатунку. *Ветеринарна медицина України*, 2, 45-46.

17. 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 национального технического университета*, (1-1 (72)), 109-116.

18. 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.

19. 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)).

20. Lialyk, A., Pokotylo, O., Kukhtyn, M., Beyko, L., Horiuk, Y., Dobrovolska, S., & Mazur, O. (2020). Fatty acid composition of curd spread with different flax oil content. *Nova Biotechnologica et Chimica*, 19(2), 216-222.

21. Carminati, D., Giraffa, G., Quiberoni, A., Binetti, A., Suárez, V., & Reinheimer, J. (2010). Advances and trends in starter cultures for dairy fermentations. *Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications*, 177-192.

22. Salata, V., Kukhtyn, M., Pekriy, Y., Horiuk, Y., & Horiuk, V. (2018). Activity of washing-disinfecting means “San-active” for sanitary treatment of equipment of meat processing enterprises in laboratory and manufacturing conditions. *Ukrainian journal of veterinary and agricultural sciences*, 1(1), 10-16.

23. Emond, E., & Moineau, S. (2007). Bacteriophages and food fermentations. *Bacteriophage: genetics and molecular biology*, 93-123.

24. Васильків, О. Б., & Кухтин, М. Д. (2023). Перспективність використання бактеріофагів для забезпечення мікробіологічної стійкості харчових продуктів. *Збірник матеріалів II Міжнародної науково-технічної конференції „Якість води: біомедичні, технологічні, агропромислові і екологічні аспекти “*, 52-53.

25. Madera, C., Monjardín, C., & Suárez, J. E. (2004). Milk contamination and resistance to processing conditions determine the fate of *Lactococcus lactis*

bacteriophages in dairies. *Applied and environmental microbiology*, 70(12), 7365-7371.

26. Карабін, Н. І., & Кухтин, М. Д. (2023). Роль фагів молочнокислих мікроорганізмів у технологіях виробництва сиру і кисломолочних продуктів. *Збірник матеріалів II Міжнародної науково-технічної конференції „Якість води: біомедичні, технологічні, агропромислові і екологічні аспекти“*, 45-45.

27. Suárez, V. B., Capra, M. L., Rivera, M., & Reinheimer, J. A. (2007). Inactivation of calcium-dependent lactic acid bacteria phages by phosphates. *Journal of food protection*, 70(6), 1518-1522.

28. Marcó, M. B., Moineau, S., & Quiberoni, A. (2012). Bacteriophages and dairy fermentations. *Bacteriophage*, 2(3), 149-158.

29. 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.

30. Mayra-Makinen, A., & Bigret, M. A. R. C. (2004). Industrial use and production of lactic acid bacteria. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-*, 139, 175-198.

31. Nath, K. R., & Wagner, B. J. (1973). Stimulation of lactic acid bacteria by a *Micrococcus* isolate: evidence for multiple effects. *Applied microbiology*, 26(1), 49-55.

32. Ringø, E., Bendiksen, H. R., Gausen, S. J., Sundsfjord, A., & Olsen, R. E. (1998). The effect of dietary fatty acids on lactic acid bacteria associated with the epithelial mucosa and from faecalia of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). *Journal of Applied Microbiology*, 85(5), 855-864.

33. 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.

34. Quiberoni, A., Auad, L., Binetti, A. G., Suárez, V. B., Reinheimer, J. A., & Raya, R. R. (2003). Comparative analysis of *Streptococcus thermophilus* bacteriophages isolated from a yogurt industrial plant. *Food microbiology*, *20*(4), 461-469.
35. Villion, M., & Moineau, S. (2009). Bacteriophages of *Lactobacillus*. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, *14*(5), 1661-1683.
36. Capra, M. L., Binetti, A. G., Mercanti, D. J., Quiberoni, A., & Reinheimer, J. A. (2009). Diversity among *Lactobacillus paracasei* phages isolated from a probiotic dairy product plant. *Journal of applied microbiology*, *107*(4), 1350-1357.
37. Capra, M. L., Quiberoni, A., & Reinheimer, J. A. (2004). Thermal and chemical resistance of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus paracasei* bacteriophages. *Letters in applied microbiology*, *38*(6), 499-504.
38. Atamer, Z., Dietrich, J., Müller-Merbach, M., Neve, H., Heller, K. J., & Hinrichs, J. (2009). Screening for and characterization of *Lactococcus lactis* bacteriophages with high thermal resistance. *International Dairy Journal*, *19*(4), 228-235.
39. Chopin, M. C. (1980). Resistance of 17 mesophilic lactic *Streptococcus* bacteriophages to pasteurization and spray-drying. *Journal of Dairy Research*, *47*(1), 131-139.
40. Atamer, Z., Ali, Y., Neve, H., Heller, K. J., & Hinrichs, J. (2011). Thermal resistance of bacteriophages attacking flavour-producing dairy *Leuconostoc* starter cultures. *International dairy journal*, *21*(5), 327-334.
41. Neve, H., Kemper, U., Geis, A., & Heller, K. J. (1994). Monitoring and characterization of lactococcal bacteriophages in a dairy plant. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, *46*(2), 167-178.
42. Verreault, D., Gendron, L., Rousseau, G. M., Veillette, M., Massé, D., Lindsley, W. G., ... & Duchaine, C. (2011). Detection of airborne lactococcal bacteriophages in cheese manufacturing plants. *Applied and environmental microbiology*, *77*(2), 491-497.

43. Verreault, D., Moineau, S., & Duchaine, C. (2008). Methods for sampling of airborne viruses. *Microbiology and molecular biology reviews*, 72(3), 413-444.
44. Marcó, M. B., del Luján Quiberoni, A., Negro, A. C., Reinheimer, J. A., & Alfano, O. M. (2011). Evaluation of the photocatalytic inactivation efficiency of dairy bacteriophages. *Chemical engineering journal*, 172(2-3), 987-993.
45. Verreault, D., Gendron, L., Rousseau, G. M., Veillette, M., Massé, D., Lindsley, W. G., ... & Duchaine, C. (2011). Detection of airborne lactococcal bacteriophages in cheese manufacturing plants. *Applied and environmental microbiology*, 77(2), 491-497.
46. Hinrichs, J. (2001). Incorporation of whey proteins in cheese. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 495-503.
47. Bruttin, A., Desiere, F., d'Amico, N., Guérin, J. P., Sidoti, J., Huni, B., ... & Brüssow, H. (1997). Molecular ecology of *Streptococcus thermophilus* bacteriophage infections in a cheese factory. *Applied and environmental microbiology*, 63(8), 3144-3150.
48. Canchaya, C., Proux, C., Fournous, G., Bruttin, A., & Brüssow, H. (2003). Prophage genomics. *Microbiology and molecular biology reviews*, 67(2), 238-276.
49. Ventura, M., Zomer, A., Canchaya, C., O'Connell-Motherway, M., Kuipers, O., Turrone, F., ... & van Sinderen, D. (2007). Comparative analyses of prophage-like elements present in two *Lactococcus lactis* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(23), 7771-7780.
50. Suárez, V., Zago, M., Quiberoni, A., Carminati, D., Giraffa, G., & Reinheimer, J. (2008). Lysogeny in *Lactobacillus delbrueckii* strains and characterization of two new temperate prolate-headed bacteriophages. *Journal of applied microbiology*, 105(5), 1402-1411.
51. Sun, X., Van Sinderen, D., Moineau, S., Heller, KJ. (2009). Impact of lysogeny on bacteria with a focus on Lactic Acid Bacteria. In: Adams HT, ed.

Contemporary Trends in Bacteriophage Research. New York, United States: Nova Science Publishers, 309-336.

52. Davidson, B. E., Powell, I. B., & Hillier, A. J. (1990). Temperate bacteriophages and lysogeny in lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 7(1-2), 79-90.

53. Capra, M. L., Mercanti, D. J., Reinheimer, J. A., & Quiberoni, A. L. (2010). Characterisation of three temperate phages released from the same *Lactobacillus paracasei* commercial strain. *International journal of dairy technology*, 63(3), 396-405.

54. Durmaz, E., Miller, M. J., Azcarate-Peril, M. A., Toon, S. P., & Klaenhammer, T. R. (2008). Genome sequence and characteristics of Lrm1, a prophage from industrial *Lactobacillus rhamnosus* strain M1.

55. Labrie, Simon J., and Sylvain Moineau. "Abortive infection mechanisms and prophage sequences significantly influence the genetic makeup of emerging lytic lactococcal phages." (2007): 1482-1487.

56. Lortal, S., & Chapot-Chartier, M. P. (2005). Role, mechanisms and control of lactic acid bacteria lysis in cheese. *International Dairy Journal*, 15(6-9), 857-871.

57. Weinbauer, M. G. (2004). Ecology of prokaryotic viruses. *FEMS microbiology reviews*, 28(2), 127-181.

58. Ackermann, H. W. (2007). 5500 Phages examined in the electron microscope. *Archives of virology*, 152, 227-243.

59. Dupuis, M. È., & Moineau, S. (2010). Genome organization and characterization of the virulent lactococcal phage 1358 and its similaritie

60. Mata, M., Trautwetter, A., Luthaud, G., & Ritzenthaler, P. (1986). Thirteen virulent and temperate bacteriophages of *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus lactis* belong to a single DNA homology group. *Applied and Environmental Microbiology*, 52(4), 812-818.

61. Desiere, F., Lucchini, S., Canchaya, C., Ventura, M., & Brüssow, H. (2002). Comparative genomics of phages and prophages in lactic acid bacteria. In

*Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications: Proceedings of the seventh Symposium on lactic acid bacteria: genetics, metabolism and applications, 1–5 September 2002, Egmond aan Zee, the Netherlands* (pp. 73-91). Springer Netherlands.

62. Nelson, D. (2004). Phage taxonomy: we agree to disagree. *Journal of bacteriology*, 186(21), 7029-7031.

63. Le Marrec, C., Van Sinderen, D., Walsh, L., Stanley, E., Vlegels, E., Moineau, S., ... & Fayard, B. (1997). Streptococcus thermophilus bacteriophages can be divided into two distinct groups based on mode of packaging and structural protein composition. *Appl. Environ. Microbiol*, 63, 3246-3253.

64. Mills, S., Griffin, C., O'Sullivan, O., Coffey, A., McAuliffe, O. E., Meijer, W. C., ... & Ross, R. P. (2011). A new phage on the 'Mozzarella' block: bacteriophage 5093 shares a low level of homology with other Streptococcus thermophilus phages. *International dairy journal*, 21(12), 963-969.

65. Quiberoni, A., Tremblay, D., Ackermann, H. W., Moineau, S., & Reinheimer, J. A. (2006). Diversity of Streptococcus thermophilus phages in a large-production cheese factory in Argentina. *Journal of Dairy Science*, 89(10), 3791-3799.

66. Marcó, M. B., Moineau, S., & Quiberoni, A. (2012). Bacteriophages and dairy fermentations. *Bacteriophage*, 2(3), 149-158.

67. Davey, G. P., Ward, L. J., & Brown, J. C. (1995). Characterisation of four Leuconostoc bacteriophages isolated from dairy fermentations. *FEMS microbiology letters*, 128(1), 21-25.

68. Boizet, B., Mata, M., Mignot, O., Ritzenthaler, P., & Sozzi, T. (1992). Taxonomic characterization of Leuconostoc mesenteroides and Leuconostoc oenos bacteriophage. *FEMS microbiology letters*, 90(3), 211-215.

69. Barrangou, R., Yoon, S. S., Breidt Jr, F., Fleming, H. P., & Klaenhammer, T. R. (2002). Characterization of six Leuconostoc fallax bacteriophages isolated from an industrial sauerkraut fermentation. *Applied and environmental microbiology*, 68(11), 5452-5458.

70. Lu, Z., Altermann, E., Breidt, F., & Kozyavkin, S. (2010). Sequence analysis of *Leuconostoc mesenteroides* bacteriophage  $\Phi$ 1-A4 isolated from an industrial vegetable fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(6), 1955-1966.

71. Moineau, S., & Lévesque, C. (2005). Control of bacteriophages in industrial fermentations. *Bacteriophages: biology and applications*, 285-296.

72. Coffey, A., & Ross, R. P. (2002). Bacteriophage-resistance systems in dairy starter strains: molecular analysis to application. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 82, 303-321.

73. 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.

74. Guglielmotti, D. M., Mercanti, D. J., Reinheimer, J. A., & Quiberoni, A. D. L. (2012). Efficiency of physical and chemical treatments on the inactivation of dairy bacteriophages. *Frontiers in microbiology*, 2, 282.

75. Ebrecht, A. C., Guglielmotti, D. M., Tremmel, G., Reinheimer, J. A., & Suárez, V. B. (2010). Temperate and virulent *Lactobacillus delbrueckii* bacteriophages: comparison of their thermal and chemical resistance. *Food microbiology*, 27(4), 515-520.

76. Mercanti, D. J., Guglielmotti, D. M., Patrignani, F., Reinheimer, J. A., & Quiberoni, A. (2012). Resistance of two temperate *Lactobacillus paracasei* bacteriophages to high pressure homogenization, thermal treatments and chemical biocides of industrial application. *Food microbiology*, 29(1), 99-104.

77. Kukhtyn, M. D., Kovalenko, V. L., Horyuk, Y. V., Horyuk, V. V., & Stravskyy, Y. S. (2016). Bacterial biofilms formation of Cattle mastitis pathogens. *Journal for veterinary medicine, biotechnology and biosafety*, (2, Iss. 4), 30-32.

78. Kakita, Y., Obuchi, E., Nakano, K., Murata, K., Kuroiwa, A., Miake, F., & Watanabe, K. (2000). Photocatalytic inactivation of *Lactobacillus* PL-1 phages by a thin film of titania. *Biocontrol Science*, 5(2), 73-79.



79. Kashige, N., Kakita, Y., Nakashima, Y., Miake, F., & Watanabe, K. (2001). Mechanism of the photocatalytic inactivation of *Lactobacillus casei* phage PL-1 by titania thin film. *Current Microbiology*, 42, 184-189.

80. Marcó, M. B., De Antoni, G. L., Reinheimer, J. A., & Quiberoni, A. (2009). Thermal, chemical, and photocatalytic inactivation of *Lactobacillus plantarum* bacteriophages. *Journal of food protection*, 72(5), 1012-1019.

81. 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), 1-10.

82. Garneau, J. E., & Moineau, S. (2011). Bacteriophages of lactic acid bacteria and their impact on milk fermentations. *Microbial cell factories*, 10(1), 110.

83. ДСТУ 4554:2006 Сир кисломолочний. Технічні умови. К. 2006. Держспоживстандарт України, 10 с.

84. Horiuk, Y., Horiuk, V., Kukhtyn, M., Tsvihun, A., & Kernychnyi, S. (2020). Characterization of lytic activity of Phage SA $\nu$ B14 on *Staphylococcus aureus* variant bovis. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 7(3), 509.

85. Horiuk, Y. V., Kukhtyn, M. D., Stravskyu, Y. S., Klymnyuk, S. I., Vergeles, K. M., & Horiuk, V. V. (2019). Influence of staphylococcal phage SA $\nu$ B14 on biofilms, formed by *Staphylococcus aureus* variant bovis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 10(3), 314-318.

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

87. Кухтин, М. Д., & Кравченко, Х. Ю. (2023). Лабораторний практикум з мікробіології молока і молочних продуктів: навчальний посібник. ТНТУ, 157с.

88. Horiuk, Y. V., Kukhtyn, M. D., Vergeles, K. M., Kovalenko, V. L., Verkholiuk, M. M., Peleno, R. A., & 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), 1128-1133.

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

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

91. 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

# ЯКІСТЬ ВОДИ: БІОМЕДИЧНІ, ТЕХНОЛОГІЧНІ, АГРОПРОМИСЛОВІ І ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ

Збірник матеріалів  
II Міжнародної науково-технічної  
конференції  
24-25 травня 2023 року



УДК 001+664+576.8.095.16+577.472+628.543+613  
Я45

ISBN 978-617-7875-61-0

## ПРОГРАМНИЙ КОМІТЕТ

### *Голова*

**Митник М.** – к.т.н., доцент, ректор ТНТУ імені Івана Пулюя

### *Заступник голови*

**Марушак П.** – д.т.н., професор, проректор з наукової роботи ТНТУ імені Івана Пулюя

### *Наукові секретарі*

**Криськова Л.** – асистент кафедри харчової біотехнології і хімії

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

### *Члени програмного комітету*

Покотило О.	Україна
Кухтин М.	Україна
Юкало В.	Україна
Лещук Р.	Україна
Корда М.	Україна
Тайлер В. ЛеБарон	США
Бриндза Ян	Словаччина
Вавренчик М.	Польща
Шинго Охта	Японія
Слезак Ян	Словакія
Соколюк В.	Україна
Андрусинина І.	Україна
Кривцова М.	Україна
Гудзь Н.	Україна

Якість води: біомедичні, технологічні, агропромислові і екологічні аспекти:  
Я45 Збірник матеріалів II Міжнародної науково-технічної конференції. (Тернопіль  
24–25 травня 2023 року) / М-во освіти і науки України, Терн. націон. техн. ун-т  
ім. І. Пулюя [та ін.]. – Тернопіль: ФОП Паляниця В. А., 2023. – 109 с.

ISBN 978-617-7875-61-0

УДК 001 + 664+576.8.095.16+577.472+628.543+613

© Тернопільський національний технічний  
університет імені Івана Пулюя, 2023  
© ФОП Паляниця В. А., 2023

СПОСОБИ ПІДВИЩЕННЯ ХЛІБА ДО ЗБЕРІГАННЯ	
<b>Х.Ю., Кравченко, Р.Ю. Кравченко</b>	37
ДОСЛІДЖЕННЯ ОСНОВНИХ ПОКАЗНИКІВ ЯКОСТІ ХЛІБОБУЛОЧНИХ ВИРОБІВ	
<b>Н.Р. Бойко</b>	38
ПЕРСПЕКТИВНІСТЬ ЗБАГАЧЕННЯ КИСЛОМОЛОЧНИХ НАПОЇВ СЕЛЕРОЮ	
<b>І.П. Борсук</b>	39
АКТУАЛЬНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ У ЗАКВАСКАХ ДЛЯ ХЛІБА	
<b>В.Р. Долинюк</b>	40
ДЖЕРЕЛА ДЛЯ ВИДІЛЕННЯ МОЛОЧНОКИСЛИХ МІКРООРГАНІЗМІВ	
<b>Р.М. Дутка</b>	41
ПІДБІР ЕФЕКТИВНИХ КОНСЕРВАНТІВ ДЛЯ ЗБЕРІГАННЯ ПЛОДОВО-ЯГІДНИХ НАПІВФАБРИКАТІВ	
<b>Х.Ю., Кравченко, Н.М. Свента</b>	42
ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНОЇ СИРОВИНИ ХЛІБОПЕКАРСЬКОГО ВИРОБНИЦТВА	
<b>Г.В. Карник, В.Г. Юрчак, Л.В. Клим</b>	43
ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ ВОДИ В МАКАРОННИХ ВИРОБАХ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ	
<b>Н. Я. Дутчак</b>	44
РОЛЬ МІКРОБІОТИ КЕФІРУ У ФОРМУВАНІ ОРГАНОЛЕПТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ	
<b>Н.І. Карабін, М.Д. Кухтин</b>	45
РОЛЬ ФАГІВ МОЛОЧНОКИСЛИХ МІКРООРГАНІЗМІВ У ТЕХНОЛОГІЯХ ВИРОБНИЦТВА СИРУ І КИСЛОМОЛОЧНИХ ПРОДУКТІВ	
<b>Г.В. Карник, К.І. Войтович</b>	46
НЕТРАДИЦІЙНІ ВИДИ СИРОВИНИ ДЛЯ БОРОШНЯНИХ ВИРОБІВ	
<b>А.В. Тимків</b>	47
ХАРЧОВІ ДОБАВКИ ДЛЯ ЗНИЖЕННЯ ПРОЦЕСІВ ЧЕРСТВІННЯ ХЛІБА	
<b>Жанна Свергун</b>	48
СПОСОБИ ДЕЗИНФЕКЦІЇ КУРЯЧИХ ЯЄЦЬ	
<b>Г.В. Карник, В.Г. Юрчак, А.Є. Грещук</b>	49
ВПЛИВ РОСЛИННОГО СТРУКТУРОУТВОРЮВАЧА НА КІЛЬКІСТЬ АДСОРБОВАНОЇ ВОЛОГИ В МАКАРОННОМУ НАПІВФАБРИКАТІ	
<b>Г.С. Кочетова, В.З. Салата, М.Д. Кухтин</b>	50
ДОСЛІДЖЕННЯ 17 $\beta$ -ЕСТРАДІОЛУ У МОЛОЦІ	
<b>Т. Лісовська, Л. Криськова, В. Стефанишин</b>	51
ПОГЛЯД НА НОВІ ДЕСЕРТИ	
<b>О.Б. Васильків, М.Д. Кухтин</b>	52
ПЕРСПЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ БАКТЕРІОФАГІВ ДЛЯ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ СТІЙКОСТІ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ	
<b>К.Є. Дацишин, М.М. Чижевська</b>	54
СИРОВАТКОВИЙ ФЕРМЕНТОВАНИЙ НАПІЙ ІЗ ПІДВИЩЕНИМ ВМІСТОМ БЛКА	
<b>Г.В. Карник, М.В. Стасюк</b>	55
РОЛЬ ВОДИ В УТВОРЕНІ ТІСТА ДЛЯ БОРОШНЯНИХ ВИРОБІВ	
<b>Ірина Назарко, Інна Салук, Галина Білецька</b>	56
ВПЛИВ ЯКОСТІ ВОДИ НА ВИРОБНИЦТВО ЯКІСНИХ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ	
	58

УДК 664

Н. І. Карабін, студент

М. Д. Кухтин, професор

Тернопільський національний технічний університет ім. Івана Пулюя, Україна

### **РОЛЬ ФАГІВ МОЛОЧНОКИСЛИХ МІКРООРГАНІЗМІВ У ТЕХНОЛОГІЯХ ВИРОБНИЦТВА СИРУ І КИСЛОМОЛОЧНИХ ПРОДУКТІВ**

N. I. Karabin, student

M. D. Kukhtyn, professor

### **THE ROLE OF PHAGES OF LACTIC ACID MICROORGANISMS IN CHEESE AND DAIRY PRODUCTION TECHNOLOGIES**

У ферментативному молочному процесі ріст молочнокислих бактерій та їх метаболічна активність необхідні для забезпечення високоякісного кінцевого продукту. Ці мікроорганізми виробляють молочну кислоту шляхом бродіння лактози, що призводить до швидкого зниження рН. Виробництво сирів й кисломолочних продуктів значною мірою залежить від цього фактора, який також має вирішальне значення для забезпечення контролю патогенних і технічно-шкідливих мікроорганізмів. Бактеріофаги або «фаги» – це віруси, які лізують бактерії. Вважається, що на землі кількість фагів перевищує кількість бактерій приблизно в 10 разів [1].

У молочній промисловості, особливо у технологіях виробництва сирів й кисломолочних продуктів застосовують молочнокислі бактерії різних видів. Тому незважаючи на використання сучасних технологій виробництва молочних продуктів із застосуванням промислових заквасочних мікроорганізмів, фагова інфекція стартових молочнокислих бактерій залишається найпоширенішою причиною повільної або неповної ферментації у молочній промисловості. В результаті чого вченим-дослідникам, так і промисловим технологам відомі регулярні, хоча й не опубліковані випадки, коли фагова інфекція, яка заражає молочнокислі бактерії, фактично призводить до зниження ферментативного процесу та якості продукту. Залежно від стадії процесу, на якій протікає фагова інфекція, наслідки можуть варіюватися від повільного утворення кислоти під час бродіння до повного зупинення молочнокислового процесу. Найбільш постійним джерелом нових фагів у молочному середовищі є сире молоко, з їх концентрацією від  $10^1$  до  $10^4$  БУО в мл. Повідомляється, що майже 10 % зразків сирого молока, відібраних з різних молокозаводів в Іспанії, містили високолітні фаги до *Lactococcus lactis*, який найчастіше використовується у складі заквасок. До того ж більшість даних фагів були здатні витримувати температуру пастеризації 95 ° протягом 5 хв [1].

Загалом, велика різноманітність природних фагів, які присутні в екосистемі сирого молока, зумовлює повсюдну їх присутність на молочних заводах, оскільки аерозольний шлях розповсюдження бактеріофагів є досить важливим [2]. Тому всі дослідження на молокопереробних заводах повинні бути спрямовані на контроль фагів у виробничих цехах, а не на їх викорінення.

#### **Література:**

1. Marcó, M. B., Moineau, S., & Quiberoni, A. (2012). Bacteriophages and dairy fermentations. *Bacteriophage*, 2(3), 149-158.

2. Горюк, Ю., & Кухтин, М. Д. (2021). Біоконтроль золотистого стафілокока у стічних водах молокопереробних підприємств. *Тези доповідей I Міжнародної науково-технічної конференції „Якість води: біомедичні, технологічні, агропромислові і екологічні аспекти “*, 81-81.