

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и
сыроделия – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

На правах рукописи

ШУХАЛОВА ОЛЬГА МИХАЙЛОВНА

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФИЗИОЛОГО – БИОХИМИЧЕСКИХ
СВОЙСТВ ОТДЕЛЬНЫХ ВИДОВ ЗАКВАСОЧНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА
КАЧЕСТВО ПОЛУТВЕРДЫХ СЫРОВ

Специальность 4.3.5. – Биотехнология продуктов питания и биологически
активных веществ

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Научный руководитель –
доктор технических наук,
Свириденко Г.М.

Углич – 2024

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1 ОБЗОР НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1 Кислотообразующие микроорганизмы как основной компонент бактериальных заквасок для производства сыров.....	12
1.2 Газо– и ароматообразующие микроорганизмы как важный компонент бактериальных заквасок для производства сыров.....	22
1.3 Лактобациллы – дополнительный компонент бактериальных заквасок для производства сыров.....	27
1.3.1 Мезофильные лактобациллы.....	30
1.3.2 Термофильные лактобациллы.....	34
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ОБЗОРУ.....	40
ГЛАВА 2 МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ, СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	42
2.1 Организация экспериментальных работ.....	42
2.2 Организация проведения исследований.....	44
2.2.1 Объекты исследований.....	44
2.2.2 Контролируемые показатели и методы контроля.....	45
2.2.3 Организация контроля молочных сред.....	50
2.2.4 Технологический регламент выработки модельных полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания, формируемых из пласта, вырабатываемых с моновидовыми заквасочными культурами.....	51
ГЛАВА 3 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	53
3.1 Мониторинг развития и метаболизма молочнокислых заквасочных микроорганизмов в модельных молочных средах для прогнозирования их влияния на процессы выработки и созревания сыров.....	53
3.1.1 Исследование динамики развития и метаболизма основной кислотообразующей микрофлоры <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lactococcus cremoris</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> в модельных молочных средах при оптимальной температуре культивирования и в условиях, имитирующих процесс выработки сыра.....	53

- 3.1.2 Исследование влияния температуры созревания, соли и их взаимодействие на динамику развития и метаболизм заквасочных микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus thermophilus* в модельной молочной среде..... 57
- 3.1.3 Исследование динамики развития и метаболизма газо- и ароматообразующей микрофлоры заквасочных микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp. в модельных молочных средах при оптимальной температуре культивирования и в условиях, имитирующих процесс выработки сыра..... 61
- 3.1.4 Исследование влияния температуры созревания, соли и их взаимодействие на динамику развития и метаболизм микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp. в модельной молочной среде..... 63
- 3.1.5 Исследование динамики газо- и ароматообразования культурами *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp. в модельных молочных средах при температуре сквашивания и температуре созревания сыров..... 67
- 3.1.6 Исследование динамики развития и метаболизма заквасочных микроорганизмов видов *Lactiplantibacillus plantarum* и *Lacticaseibacillus casei* в модельных средах при оптимальной температуре культивирования и в условиях, имитирующих процесс выработки сыра..... 69
- 3.1.7 Исследование влияния температуры созревания, соли и их взаимодействие на динамику развития и метаболизм заквасочных микроорганизмов *Lactiplantibacillus plantarum* и *Lacticaseibacillus casei* в модельной молочной среде..... 70
- 3.1.8 Исследование динамики развития и метаболизма штаммов заквасочных микроорганизмов *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus helveticus* в модельных молочных средах при оптимальной температуре и в условиях, имитирующих процесс выработки сыров..... 73
- 3.1.9 Исследование влияния температуры созревания, соли и их взаимодействие на динамику развития и метаболизм заквасочных

микроорганизмов <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> и <i>Lactobacillus helveticus</i> в модельной молочной среде	75
3.2 Исследование процессов развития и метаболизма молочнокислых заквасочных микроорганизмов при выработке сыров.....	84
3.2.1 Микробиологические и физико-химические процессы во время выработки сыра с основной кислотообразующей моновидовой культурой <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lactococcus cremoris</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>	87
3.2.2 Микробиологические и физико-химические процессы во время выработки сыров с газоароматообразующей моновидовой культурой <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i> и <i>Leuconostoc</i> subsp.	89
3.2.3 Микробиологические и физико-химические процессы во время выработки сыра с моновидовой культурой мезофильных лактобацилл видов <i>Lacticaseibacillus casei</i> и <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	90
3.2.4 Микробиологические и физико-химические процессы во время выработки сыра с моновидовыми культурами термофильных лактобацилл видов <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> и <i>Lactobacillus helveticus</i>	92
3.3 Исследование процессов развития и метаболизма молочнокислых заквасочных микроорганизмов при созревании сыров.....	95
3.3.1 Микробиологические и физико-химические процессы во время созревания сыров, с моновидовыми культурами <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lactococcus cremoris</i> и <i>Streptococcus thermophilus</i>	95
3.3.2 Микробиологические и физико-химические процессы во время созревания сыров, выработанных с моновидовыми газо- и ароматообразующими культурами <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i> и <i>Leuconostoc</i> subsp.....	102
3.3.3 Микробиологические и физико-химические процессы во время созревания сыров, с моновидовыми культурами мезофильных лактобацилл видов <i>Lacticaseibacillus casei</i> и <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	107
3.3.4 Микробиологические и физико-химические процессы во время созревания сыров с моновидовыми культурами термофильных лактобацилл	

видов <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> и <i>Lactobacillus helveticus</i>	113
3.4 Органолептическая оценка сыров, выработанных с использованием моновидовых культур заквасочных микроорганизмов.....	123
3.4.1 Органолептическая оценка сыров, выработанных с использованием моновидовых заквасочных микроорганизмов <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lactococcus cremoris</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>	123
3.4.2 Органолептическая оценка сыров, выработанных с использованием моновидовых культур заквасочных микроорганизмов <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i> и <i>Leuconostoc</i> subsp.	125
3.4.3 Органолептическая оценка сыров, выработанных с использованием моновидовых культур заквасочных микроорганизмов <i>Lacticaseibacillus casei</i> и <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	127
3.4.4 Органолептическая оценка сыров, выработанных с использованием моновидовых культур заквасочных микроорганизмов <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> и <i>Lactobacillus helveticus</i>	129
ГЛАВА 4 РАЗРАБОТКА ТЕХНИЧЕСКОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ.....	132
ВЫВОДЫ.....	135
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	137
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	138
ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	156
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	157
ПРИЛОЖЕНИЕ В.....	158

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследований. Стратегия повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года ориентирована на выпуск готового продукта надлежащего качества. Рынок ферментируемых молочных продуктов, в том числе сыров, требует выпуска не только безопасной и стабильно качественной продукции, но и отвечающей потребительским предпочтениям населения.

По мере познания процессов, происходящих при выработке и созревании сыров, отчетливо просматривается определяющая роль микробиологических процессов в формировании сыра как уникального пищевого продукта. Поэтому сыроделие рассматривается как биотехнологическое производство, в котором биологические и технологические компоненты взаимодействуют для достижения единой цели – получения продукта с характерными органолептическими свойствами. При этом технологические параметры производства должны обеспечивать требуемую интенсивность и направленность развития и метаболизма микроорганизмов, входящих в состав бактериальных заквасок. Успешное решение проблемы регулирования микробиологических процессов в сыре зависит от знания особенностей биологии конкретных видов заквасочной микрофлоры и их соответствия технологическим режимам изготовления сыра, определяющим формирование качественных показателей продукта.

Необходимым элементом производства сыров являются молочнокислые микроорганизмы, вносимые в смесь для выработки в виде специально подобранных и подготовленных комбинаций – заквасок. Подбор состава заквасочной микрофлоры должен учитывать технологические параметры производства конкретных видов сыра и искомые органолептические характеристики готового продукта. В процессе выработки и созревания сыра, используемые температурные и временные режимы производства не должны ограничивать развитие заквасочных микроорганизмов, а по возможности обеспечивать условия для их жизнедеятельности и функционирования

ферментативных систем. Физиология отдельных видов заквасочных микроорганизмов определяет целесообразность их использования в составе бактериальных заквасок при производстве конкретных видов сыра с учетом особенностей технологических режимов их производства [1, 2, 3].

Состав микрофлоры заквасок для сыров сформировался в процессе разработки конкретных технологий. К настоящему времени сложились требования к составу основной микрофлоры заквасок для сыроделия, которые представлены в технологических инструкциях по производству сыров и являются основой для формирования ассортимента выпускаемых бактериальных заквасок. При этом необходимо отметить, что спектр видов молочнокислых бактерий, используемый в качестве микрофлоры заквасок, постоянно расширяется. Это связано как со стремлением производителя улучшить органолептические показатели сыров, повысить их питательную и биологическую ценность, устойчивость к биоповреждениям, интенсифицировать процесс выработки и ускорить созревание, так и со стремлением расширить ассортимент сыров с новыми органолептическими характеристиками.

Расширение спектра заквасочных микроорганизмов, включаемых в состав бактериальных заквасок для сыроделия, требует разработки комплексных подходов для оценки их соответствия как технологическим параметрам производства, так и получения качественных сыров с искомыми органолептическими показателями.

Степень разработанности темы. Технология сыров базируется на микробиологических процессах, происходящих на всех этапах производства под действием заквасочных культур и их метаболитов, что в конечном итоге определяет потребительские показатели продукта. Значительный вклад в развитие микробиологии сыроделия внесли внесли Грибшман М.Р., Богданов В.М., Гудков А.В., Свириденко Ю.Я., Климовский И.И., Перфильев Г.Д., Королев С.А., Уманский М.С., Белова Г.А., Остроумов Л.А, Свириденко Г.М., Сорокина Н.П., Т. А. Scott, Т. Coghlan, С. Hill, а также их многочисленные ученики и другие отечественные и зарубежные ученые. Тем не менее, теория и практика управления

микробиологическими процессами в сыроделии нуждается в непрерывном развитии и совершенствовании.

Цель и задачи исследований. Целью исследований является комплексная оценка динамики развития и метаболизма конкретных видов МКМ, как в модельных молочных средах, в условиях, имитирующих режимы выработки и созревания сыров, так и в модельных полутвердых сырах, для прогнозирования рисков снижения качественных показателей продукта.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Провести мониторинг динамики развития и кислотообразования коллекционных штаммов молочнокислых заквасочных микроорганизмов видов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Leuconostoc* subsp., *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lacticaseibacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus* в модельных молочных средах в условиях, имитирующих режимы выработки и созревания полутвердых сыров, для прогнозирования влияния конкретных культур МКМ на качественные показатели сыров.

2. Исследовать динамику развития и кислотообразования заквасочных микроорганизмов конкретных видов в процессе выработки модельных сыров.

3. Исследовать влияние условий созревания модельных сыров на динамику развития и метаболизм МКМ конкретных видов, в том числе направленность и интенсивность процессов гликолиза, протеолиза, накопление вкусоароматических веществ.

4. Оценить органолептические показатели модельных сыров, выработанных с использованием моновидовых культур, и риски снижения потребительских показателей полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания формируемых из пласта при использовании того или иного вида МКМ.

5. Разработать методические положения, включающие оценку видового состава бактериальных заквасок с учетом особенностей развития и метаболизма конкретных видов заквасочных микроорганизмов в процессе выработки и

созревания, а также их влияние на органолептические показатели и риски формирования пороков сыра.

Научная новизна. Получены новые знания о динамике развития и кислотообразования конкретных видов заквасочных микроорганизмов в модельных молочных средах в условиях, имитирующих режимы выработки и созревания сыров, а также процессах развития и метаболизма, включающих гликолиз, протеолиз, накопление вкусоароматических веществ и формирование органолептических показателей в модельных полутвердых сырах.

Теоретическая и практическая значимость работы. Выявлены особенности развития и метаболизма конкретных видов заквасочных культур, как в модельных молочных средах, в условиях, имитирующих режимы выработки и созревания сыров, так и в модельных полутвердых сырах, что дает возможность прогнозировать влияние культур на органолептические показатели сыров и оценивать степень рисков формирования пороков и снижения качества готового продукта.

Результаты исследований использованы при разработке МП 021–2023 «Общие и специфические требования к бактериальным закваскам с учетом состава микрофлоры, количества жизнеспособных клеток, физического состояния и особенностей технологии производства сыров» для научно обоснованного подбора поливидовых бактериальных заквасок молокоперерабатывающими предприятиями, с учетом их видового состава и соотношения культур, исходя из возможности их развития и метаболизма в условиях конкретных технологических режимов производства и требований к готовому продукту.

Методология и методы исследования. Основу методологии составляют исследования динамики развития и метаболизма производственных штаммов заквасочных МО в модельных молочных средах, в условиях, имитирующих режимы выработки и созревания полутвердых сыров, а также в процессе экспериментальных выработок и созревания модельных сыров. Оценивалось влияние штаммов каждого вида микроорганизмов в отдельности на ход ферментативных процессов гликолиза, протеолиза и накопление

вкусоароматических веществ, а также органолептические показатели. В работе использованы как общепринятые, так и специальные микробиологические, физико-химические, биохимические и органолептические методы исследований.

Научные исследования по диссертационной работе проводились в рамках темы по Гос. заданию № 0585 – 2019 – 0010 «Разработать требования к видовому составу и биологическим свойствам бактериальных заквасок для производства ферментированных молочных продуктов, в том числе сыров, с целью обеспечения национальной продовольственной безопасности и стабилизации качества продукции».

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- результаты мониторинга динамики роста и метаболизма коллекционных штаммов молочнокислых микроорганизмов в модельных молочных средах, в условиях, имитирующих режимы выработки и созревания сыров по скорости развития и кислотообразования при технологически значимых температурных и временных режимах, а также психротрофности и солеустойчивости;

- результаты оценки микробиологических, биохимических и физико-химических процессов во время выработки и созревания модельных сыров под действием моновидовых культур и их влияние на формирование органолептических показателей;

- результаты сравнительной оценки процессов развития и метаболизма молочнокислых заквасочных культур в модельных молочных средах, имитирующих режимы выработки и созревания сыров и в реальных условиях производства.

Апробация результатов. Основные результаты работы были представлены и обсуждены на российских и международных конференциях: «Перспективные исследования и новые подходы к производству и переработке сельскохозяйственного сырья и продуктов питания» (г. Углич, 2019); «Современные пищевые тенденции глазами молодых ученых: перспективы, инновации и прогрессивные технологии» (г. Санкт-Петербург, 2021); «Молоко и молочная продукция: актуальные вопросы производства» (г. Углич, 2021);

«Направленная трансформация продовольственного сырья при производстве продуктов питания, пищевых и биологически активных добавок, обеспечение контроля качества и безопасности» (г. Краснодар, 2022).

Результаты работы, доложенные на конференции молодых ученых «Передовые достижения науки в молочной отрасли» в секции «Инновационные технологии в переработке молока», отмечены дипломом III степени в номинации «Аспиранты и молодые ученые» (г. Вологда, 2021) (приложение А); на конференции молодых учёных и специалистов «Актуальные вопросы и современные решения в области пищевых систем» - дипломом «За перспективное направление научно-исследовательской работы» (Москва, 2022) (приложение Б).

Степень достоверности. Достоверность полученных данных подтверждается проведением экспериментов не менее, чем в 3-х кратной повторности с применением современных методов анализа, технологического оборудования и приборов, а также статистической обработки результатов исследований с использованием пакета программ Microsoft Excel. Результаты экспериментальных данных представлены в формате «среднее значение \pm стандартное отклонение».

Публикации. По материалам научной работы опубликовано 21 печатная работа, в том числе: 15 статей в рецензируемых научных изданиях, входящих в RSCI, 2 статьи в рецензируемых журналах входящих в список ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, 2 – в международных изданиях, входящих в наукометрические базы Scopus и Web of Science, и в сборниках материалов российских и международных конференций – 2 статьи.

Структура и объём диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора научно-технической литературы, описания методов и объектов исследований, представления и обсуждения полученных результатов, заключения, списка использованной литературы, содержащей 156 источников. Работа изложена на 159 страницах, содержит 69 рисунков, 35 таблицы и 3 приложения.

ГЛАВА 1 ОБЗОР НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Кислотообразующие микроорганизмы, как основной компонент бактериальных заквасок для производства сыров

Технологии полутвердых сыров включает совокупность методов и средств воздействия на молоко, направленных на изменение его состояния, состава, свойств, формы для получения нового пищевого продукта – сыра со специфическими свойствами и физико-химическими показателями, высокой питательной и биологической ценностью [4 - 8]. Многообразие изменений составных частей сырной массы в процессе выработки и созревания сыров определяется в основном видовым составом и интенсивностью процессов развития заквасочной микрофлоры. Основной составляющей всех бактериальных заквасок, используемых при производстве сыров, являются кислотообразующие заквасочные микроорганизмы, главной функцией которых является сбраживание лактозы с образованием молочной кислоты, то есть обеспечение необходимого уровня молочнокислого процесса, регламентированного технологическими инструкциями по производству конкретного вида продукции [9 - 12].

Основными критериями отбора заквасочных культур для ферментируемых молочных продуктов можно считать возможность развития и метаболизма, а также способность сбраживать углеводы в определенных температурных и временных режимах с оптимальной скоростью и образованием нужных продуктов брожения, что характеризуется скоростью кислотообразования, предельной кислотообразующей активностью и активностью свертывания (сквашивания) молока, оцениваемых по изменению титруемой и/или активной кислотности за определенные промежутки времени.

Кислотообразующая активность, характеризующая скорость процесса гликолиза, – важнейший показатель заквасок, так как отклонение скорости кислотообразования во время выработки сыров, в любую сторону от оптимального уровня, наносит большой ущерб качеству и безопасности готового продукта.

Кислотообразующий потенциал закваски определяется видовым и штаммовым составом микрофлоры. Реализация кислотообразующего потенциала микрофлоры закваски зависит от технологии приготовления и применения закваски, качества молока и его подготовки для производства продукции, санитарного состояния предприятий, в частности фаговой ситуации [1].

Основным источником энергии для большинства заквасочных микроорганизмов в ферментируемых молочных продуктах, в том числе сырах, является лактоза. Вещества, образующиеся в результате сбраживания лактозы, не только играют важную роль в образовании вкуса, аромата, консистенции и рисунка сыров, но и в значительной степени определяют направленность физико-химических, биохимических и микробиологических процессов. В частности, в результате накопления молочной кислоты и снижения активной кислотности создаются неблагоприятные условия для развития посторонних микроорганизмов, источником энергии для которых так же служат углеводы, например, энтеробактерий, стафилококков, дрожжей и др., инактивируются щелочные протеазы, которые осуществляют не специфический для сыра протеолиз, а также изменяется структура сырной массы [12, 13].

Кислотообразующие виды молочнокислых бактерий, входящие в состав заквасок для сыроделия, преимущественно включают в себя виды *Lactococcus lactis* (далее лактококки) и *Streptococcus thermophilus* (далее термофильный стрептококк) [14].

Лактококки составляют подавляющую часть микрофлоры большинства видов сыров. Они представляют собой группу близкородственных в генетическом отношении молочнокислых кокков, включающую следующие подвиды: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis diacetylactis* [14, 15]. Лактококки быстро развиваются в молоке и молочных продуктах и обеспечивают процесс молочнокислого брожения – сбраживают молочный сахар (лактозу) с образованием молочной кислоты, летучих кислот и ароматических веществ [14, 16, 17, 18].

В соответствии с «Определителем бактерий Берджи» [19] род *Lactococcus* относится к Группе 17 «Грамположительные кокки». Клетки данных микроорганизмов сферические или овальные размером $(0,5-1,2) \times (0,5-1,5)$ мкм, в жидкой среде располагаются в парах и коротких цепочках. Эндоспор не образуют, грамположительные, неподвижные, капсул не имеют. Факультативные анаэробы. Хемоорганотрофы. Метаболизм бродильного типа: сбраживают углеводы с образованием в основном L (+) – молочной кислоты, но не газа. Потребности в питательных веществах сложные. Каталазо- и оксидазоотрицательные. Оптимальная температура для роста рода *Lactococcus* 30 °С. Растут при 10 °С, но не при 45 °С; не растут в присутствии 6,5 % NaCl [19].

Лактококки и термофильный стрептококк, являясь гомоферментативными микроорганизмами, сбраживают лактозу с преимущественным образованием молочной кислоты. Однако сбраживание лактозы этими культурами протекает не одинаково.

Лактококки гидролизуют лактозу на глюкозу и галактозу на клеточной мембране, откуда оба сахара поступают внутрь клетки, и одновременно сбраживаются до молочной кислоты [20 - 22].

В процессе гликолиза лактококки способны метаболизировать как глюкозу, так и галактозу. У ряда авторов для лактококков описаны два основных пути метаболизма лактозы [23, 24]. В первом пути во время гидролиза лактоза фосфорилируется через систему лактозофосфотрансферазы до лактозо-6-фосфата [25]. Во втором пути лактоза интернализуется в клетку через специфическую пермеазу [26] на клеточной мембране и затем расщепляется на галактозу и глюкозу с помощью β -галактозидазы, затем галактоза метаболизируется по пути Лелуара [27-31]. β -галактозидаза и 6-фосфо- β -галактозидаза являются ключевыми ферментами метаболизма лактозы у лактококков [27, 32]. Китайские ученые доказали, что штаммы лактококков, с высокой активностью фосфат- β -галактозидазы способствуют снижению содержания галактозы в ферментируемых молочных продуктах [33].

В отличие от лактококков термофильный стрептококк расщепляет лактозу внутри клетки, на молекулы глюкозы и галактозы, однако подавляющее количество штаммов не способны дальше метаболизировать галактозу, выделяя обратно в окружающую среду, что может приводить к ее накоплению, либо использованию в качестве источника энергии для других микроорганизмов. Однако, некоторые штаммы термофильного стрептококка способны сбраживать как глюкозу, так и галактозу (Гал+ штаммы). Такие штаммы встречаются значительно реже, чем не сбраживающие галактозу (Гал-) – штаммы. Избыток в среде лактозы сильно тормозит сбраживание галактозы даже (Гал+) – штаммами [34 - 35].

Группой ученых под руководством Zhi-Qiang Xiong [36] были выделены из традиционных китайских молочных продуктов и протестированы пять штаммов *Streptococcus thermophilus* на способность утилизировать лактозу, галактозу и глюкозу. Исследуемые штаммы росли на агаризованной среде с лактозой или глюкозой в качестве единственного источника энергии. Только один из всех штаммов мог расти на агаризованной среде с галактозой, что свидетельствует о том, что исследуемые штаммы термофильного стрептококка представляют собой (Гал -) и (Гал +) фенотипы. Не было существенной разницы в использовании лактозы между штаммами. По сравнению с галактозой и глюкозой лактоза была наиболее эффективным источником углеводного питания для роста клеток. Максимальная скорость роста на галактозе и глюкозе была ниже, чем на лактозе. Было выявлено, что штаммы *Streptococcus thermophilus* хорошо приспособлены к росту на лактозе в качестве основного источника углерода и энергии [36].

В полутвердых сырах только часть образующейся в результате жизнедеятельности термофильного стрептококка галактозы сбраживается лактококками [37]. Остаточная галактоза является источником энергии для мезофильных молочнокислых палочек незаквасочного происхождения [38], способных вызывать различные пороки сыра. В связи с этим в некоторых европейских странах нормируется как содержание термофильного стрептококка в сырах, так и лактобацилл незаквасочного происхождения [14, 39].

Ученые Michel V. и Martley F.G. [40] проводили выработки сыра Чеддер с использованием в качестве заквасочных культур *Streptococcus thermophilus* в сочетании с *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, а также *Streptococcus thermophilus* с *Lactobacillus rhamnosus*. В сырной массе варианта *Streptococcus thermophilus* с *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* перед посолкой количество галактозы составляло ~ 28 ммоль/кг сыра, а в варианте сыра, выработанном с использованием культур *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus rhamnosus* ~ 24 ммоль галактозы/кг. В течение первых 3 месяцев созревания в варианте сыра с *Lactobacillus rhamnosus* галактоза была утилизирована полностью, тогда как в сыре с *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* остаточное количество составляло ~ 22 ммоль галактозы/кг [40].

При подборе состава бактериальных заквасок для выработки различных ферментированных молочных продуктов, в том числе сыров, необходимо учитывать особенности каждого подвида лактококков.

Lactococcus cremoris в отличие от *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* не сбраживает мальтозу, ксилозу, инулин, рибозу и декстрин, не растет при температуре выше 40 °С. Энергия кислотообразования у *Lactococcus cremoris* слабее, чем у *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* [14]. Так же *Lactococcus cremoris* отличается от *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* меньшей метаболической активностью и более низкой устойчивостью к внешним факторам, особенно к содержанию в среде NaCl и активности воды, а также к температуре [41 - 43]. Многие штаммы *Lactococcus cremoris* имеют максимальную температуру для роста в молоке ниже 40 °С (35 – 39) °С. Так, по данным Гудкова А.В. [14] из 9 штаммов *Lactococcus cremoris* ни один не дал заметного роста при 40 °С и только один размножился при 39 °С. Тем же автором доказано, что высокие концентрации соли и Н⁺ разобщают процессы размножения и кислотообразования у *Lactococcus cremoris*. Полное прекращение размножения *Lactococcus cremoris* при довольно высокой скорости кислотообразования наблюдается при концентрации соли больше 3 %, и температуре (38 – 40) °С. Более точным показателем устойчивости микроорганизмов к соли является минимальная активность воды для

роста. Минимальная активность воды для роста *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* равна 0,955, а для *Lactococcus cremoris* - 0,975, что соответствует активности воды в сыре Российский после прессования с содержанием (42 – 44) % влаги и 2,0 % соли [14].

Poudel R. с соавторами [44] сравнивали рост и выживаемость отдельных штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Lactococcus cremoris* во время выработки сыра Чеддер, а также после посола и прессования. Сыры, выработанные с использованием штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, содержали примерно в 4 раза ($\sim 0,6 \log$) больше бактериальных клеток, чем сыры полученные с использованием штаммов *Lactococcus cremoris* [44].

В отношении образования горьких продуктов протеолиза *Lactococcus cremoris* имеет несомненное преимущество перед *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Одной из причин появления горечи в сырах могут быть специфические особенности расщепления казеина штаммами *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Штаммы *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, обладающие достаточно высокими скоростями роста и кислотообразования при повышенных температурах, образовывали среднюю и сильную горечь в молоке после 7 суток инкубации при 30 °С (образование горечи в молоке коррелирует с ее образованием в сыре). Штаммы с низкой скоростью кислотообразования в молоке чаще всего не дают горечи [41, 46, 47, 48].

Лактококки наряду с их кислотообразующей способностью обладают сложным комплексом вне и внутри клеточных протеолитических ферментов. Качественный и количественный состав протеаз сильно варьирует в зависимости от штаммовой принадлежности бактерий и условий их культивирования [49, 50].

В исследовании Yvon. M., Gitton. C., Chambellon. E., Bergot. G., и Monnet. V. [54] сообщалось, что степень биосинтеза протеазы у *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* регулируется компонентами среды, в которой росли бактерии. Было обнаружено, что специфические дипептиды участвуют в контроле инициации транскрипции генов протеаз. Большинство лактококков не синтезируют строго внеклеточно секретлируемые протеазы. Вместо этого они продуцируют сериновые протеазы, связанные с клеточной оболочкой, которые иницируют деградацию казеина.

Кроме того, в утилизации продуктов деградации казеина участвуют эффективная система пептидаз и система транспорта пептидов [51]. Развитие вкуса при созревании сыра также зависит от активности протеаз и пептидаз. Разложение казеина протеазами и пептидазами приводит к высвобождению как желательных, так и нежелательных вкусообразующих пептидов [52].

Группа ученых под руководством Visser S. [53] провели сравнительный анализ различных штаммов лактококков на основании специфики воздействия на казеин, что позволило выявить два типа протеиназ: 1) НР- или РI-тип, предпочтительно расщепляющий β -казеин с незначительным количеством α 1-казеина в течение 24 часов ферментации; 2) АМI- или РIII-тип, гидролизующий α 1- и β -казеин, но с иной специфичностью, чем РI-тип [53, 54]. Согласно исследованиям, Kunji E.R. и Juillard V. [55] РI-тип предпочтительно гидролизует β -казеин; κ -казеин расщепляется менее эффективно. В то же время РIII-тип способен гидролизовать α 1-, β - и κ -казеины в равной степени [55, 56]. При их участии происходит гидролиз белков молока, приводящий к модификации, образованию и накоплению в сырной массе белков и пептидов с различной молекулярной массой и биологической активностью, свободных аминокислот [57 - 62].

Белорусскими учёными института микробиологии проводилась оценка трех штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, выделенных из образцов спонтанно сквашенных кисломолочных продуктов на определение протеолитической активности. Изучение локализации протеолитических ферментов показало, что у всех исследуемых штаммов лактококков казеинолитическая активность отсутствовала и была связана с фракцией клеточных стенок, что согласуется со сведениями, приведенными в литературе, о связи протеиназ молочнокислых бактерий с клеточной поверхностью [51, 61, 63].

В отличие от протеолитической липолитическая активность лактококков как правило незначительна [48, 64, 65, 66].

Различия в технологии производства сыров, составе и качестве молока в европейских странах и России привели к некоторым отличиям и в составе микрофлоры импортных и отечественных заквасок для сыров, особенно

полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания. Эти различия касаются, прежде всего, видового состава и количественного соотношения видов заквасочных культур. В составе заквасок многих иностранных фирм из лактококков преобладает *Lactococcus cremoris*, в то же время *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* либо отсутствует, либо его доля незначительна. Основу отечественных заквасок составляет лактококк подвида *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Такая особенность связана с физиолого-биохимическими характеристиками и предельными температурами роста у лактококков, что имеет прямое отношение к используемой температуре второго нагревания в технологии отечественных сыров. Температура второго нагревания при производстве традиционных отечественных сыров с низкой температурой второго нагревания достигает (40 – 42) °С. В таких условиях обеспечить нормальный уровень молочнокислого процесса, качество и безопасность сыров могут только закваски на основе *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. После кратковременной выдержки лактококков во время второго нагревания при (40 – 42) °С (предельная температура роста для лактококка подвида *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) клетки испытывают тепловой шок и получают сублетальные повреждения, что приводит к торможению их развития и снижению скорости кислотообразования. Однако микроорганизмы обладают способностью восстанавливать сублетальные повреждения и после снижения температуры сырной массы до оптимальной активность клеток может стабилизироваться. Для восстановления требуется определенное время, адекватное степени повреждений. В связи с этим нередко при выработке полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания зарубежные поставщики заквасок рекомендуют для производства полутвердых сыров мезофильно-термофильные заквасочные культуры, которые содержат в своем составе термофильный стрептококк [67].

Род *Streptococcus* – в соответствии с «Определителем бактерий Берджи» относится к Группе 17 «Грамположительные кокки». Является гомоферментативным молочнокислым микроорганизмом. Клетки сферические или овальные, диаметром (0,5 – 2,0) мкм немного крупнее клеток лактококков,

расположены парами и цепочками; в фазе экспоненциального роста преобладают длинные цепочки. Неподвижные; неспорообразующие; грамположительные. У некоторых видов клетка окружена капсулой. Факультативные анаэробы. Хеноорганотрофы; нуждаются для роста в богатых питательных средах и иногда в 5 % CO₂. Метаболизм бродильного типа; образуют в основном лактат, но не газ. Каталлазаотрицательные. Обычно лизируют эритроциты, вызывая обесцвечивание и позеленение кровяной среды (α -гемолиз) либо ее полное просветление (β -гемолиз) [19].

Streptococcus thermophilus широко используется в составе бактериальных заквасок при производстве ферментированных молочных продуктов, в том числе йогуртов, Мечниковской простокваши, ряженки, варенца, сметаны, творога и некоторых видов сыра (Моцарелла, Чеддер, а также сыров с высокой температурой второго нагревания) [68 - 72]. Однако использование термофильного стрептококка при производстве созревающих сыров с низкой температурой второго нагревания не рекомендуется, что продиктовано его физиолого-биохимическими свойствами. Использование *Streptococcus thermophilus* в составе заквасок при выработке полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания неизбежно приводит к необходимости корректировки технологического процесса.

В соответствии со «Сборником технологических инструкций по производству полутвердых сыров ТИ ГОСТ 32260-2013» термофильный стрептококк не должен входить в состав бактериальных заквасок для созревающих сыров, в том числе Костромского, Голландского, Российского, Ярославского, Степного, Угличского, Эстонского, Латвийского и др. Невзирая на существующие ограничения, большинство производителей применяют для выработки данной группы сыров мезофильно-термофильные бактериальные закваски, в состав которых входит *Streptococcus thermophilus*.

Использование в составе заквасок для этих сыров *Streptococcus thermophilus* приводит к излишнему повышению уровня молочнокислого процесса, ухудшению их качества, появлению таких пороков, как кислый, пустой вкус, щелевидный или сетчатый рисунок, мажущая или грубая консистенция. Кроме негативного влияния

на качество сыров с низкой температурой второго нагревания необходимо учитывать высокую термостойкость термофильного стрептококка, который способен развиваться в молоке при температуре 55 °С в течение 30 мин [73, 74].

Благодаря резистентности к высоким температурам термофильный стрептококк нашел широкое применение при производстве твердых и полутвердых сычужных сыров с высокими и средними температурами второго нагревания – сыров «Чеддер», «Моцарелла», «Горгонзола» и др. При совместном культивировании в молоке термофильный стрептококк стимулирует развитие пропионовокислых бактерий и болгарской палочки. Введение термофильного стрептококка в закваски для производства сыров с чеддеризацией и плавлением сырной массы ускоряет процессы сбраживания лактозы [67]. Кроме этого, *Streptococcus thermophilus* обладает высокой способностью адгезии к поверхностям из нержавеющей стали. Необходимо строго соблюдать режимы мойки и дезинфекции молочного оборудования при использовании термофильного стрептококка в составе заквасок, особенно при выработке в одном сыроизготовителе разных видов сыра. Неэффективная дезинфекция может привести к значительному обсеменению оборудования термофильным стрептококком, размножению бактериофагов и неизбежному снижению качества выпускаемой продукции [75, 76].

Термофильный стрептококк не особенно широко распространен в окружающей среде, т.к. обладает низкой устойчивостью к внешним факторам, за исключением устойчивости к температуре. Основной и постоянный источник термофильного стрептококка – молоко и молочные продукты. В сыром молоке данный микроорганизм по численности занимает первое место среди термостойкой молочнокислой микрофлоры [14, 68, 77].

Многие штаммы термофильного стрептококка свертывают молоко с образованием вязких, иногда тягучих сгустков. Очевидно, это связано с их способностью образовывать в молоке полисахариды, в состав которых входит галактоза и глюкоза, а также небольшие количества ксилозы, арабинозы, рамнозы и маннозы [14, 78].

При подборе штаммов термофильного стрептококка в состав заквасок направленного действия их необходимо дифференцировать на «вязкие» и «невязкие» штаммы. Так благодаря способности вязких штаммов влиять на состояние сгустка, термофильный стрептококк часто используют в составе заквасок для кисломолочных продуктов, в том числе йогуртов и сметаны, для улучшения консистенции. Использование вязких штаммов в составе закваски для производства сыра недопустимо [79, 80].

Таким образом, анализ доступной отечественной и зарубежной литературы показал, что использование мезофильных лактококков и термофильного стрептококка в составе бактериальных заквасок для полутвердых сыров обеспечивает процесс кислотообразования и ряда биохимических трансформаций на этапе производства и во время созревания сыров. Однако температурные и временные условия выработки и созревания сыров по-разному влияют на скорость и направленность процессов развития и метаболизма заквасочных культур *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris* и *Streptococcus thermophilus*

1.2 Газо– и ароматообразующие микроорганизмы как важный компонент бактериальных заквасок для производства сыров

При производстве созревающих сыров, большое значение для формирования органолептических показателей имеет газо-и ароматообразующая активность заквасочных культур. Ароматообразование является результатом жизнедеятельности особой группы молочнокислых бактерий, которые при сбраживании лактозы способны продуцировать, кроме молочной, уксусную, пропионовую и другие кислоты, углекислый газ, спирты и эфиры, а также некоторые из них способны метаболизировать цитраты. Цитрат является важным предшественником вкусообразования при ферментации молочных продуктов. В отличие от лактозы, которая может потребляться многими молочнокислыми бактериями, цитраты ферментируются только определенными молочнокислыми бактериями, такими как *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp.

Цитратсбраживающие бактерии превращают цитрат через оксалоацетат и пируват в диацетил и ацетоин. Последние два соединения отвечают за сливочный аромат молочных продуктов [14, 81].

Процесс ароматообразования всегда сопряжен с процессом газообразования, что имеет большое практическое значение при производстве сыров. Так, сыры, формуемые из пласта, должны иметь соответствующий рисунок, что предполагает обязательный процесс газообразования под действием заквасочных культур. С другой стороны, при производстве ряда кисломолочных продуктов, сметаны, творога, особенно фасуемых в герметичную упаковку, наличие в составе заквасочной микрофлоры газообразующей составляющей может привести к порокам и снижению хранимоспособности [12].

Газоароматообразующая составляющая микрофлоры бактериальных заквасок для сыров с низкой температурой второго нагревания представлена лактококками *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и лейконостоками *Leuconostoc lactis* и *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*.

Однако в 9-ом издании определителя бактерий Берджи [19] есть информация только о двух подвидах лактококка: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Lactococcus cremoris*, без какого-либо упоминания о *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*. Впервые субспецифический статус для диацетильного лактококка был определен Schleifer (1985 г), но в последнее время их относят к биотипу (biovar) *Lactococcus lactis* из-за важности диацетил формирующих лактококков, особенно в молочных продуктах, где различие между *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Lactococcus lactis* subsp. *lactis diacetylactis* является более значимыми [19, 82].

Основным отличием диацетильных лактококков от других двух подвигов можно считать способность к образованию диацетила из цитрата. Диацетил является наиболее характерным ароматическим соединением и образуется из цитрата молока, присутствующего как в растворе, так и в мицеллах казеина в качестве казеин-цитратно-кальций-фосфатного комплекса. Ферментативное разложение цитратов проходит через оксалоацетат, пируват и α -ацетолактат с

высвобождением диоксида углерода, который вызывает образование глазков в сыре, а также нежелательное поднятие сгустка при производстве творога или кварка, если используется несбалансированный состав заквасочной микрофлоры [15, 83, 84].

Диацетил (но не ацетон) принимает участие в формировании аромата сыров. Благодаря образованию диацетила цитратсбраживающий лактококк часто называют ароматообразующим, а два других подвида – кислотообразующими микроорганизмами. В то же время активные по кислотообразующей способности штаммы диацетильного лактококка вносят в процесс кислотообразования при производстве сыров такой же вклад, как и два других подвида лактококков. Несмотря на способность образовывать CO_2 из цитратов, диацетильный лактококк является гомоферментативным микроорганизмом, так как сбраживает лактозу, подобно другим лактококкам, с преимущественным образованием молочной кислоты [85].

По данным Гудкова А.В. [14] по характеру развития и метаболизма в молочных средах культуры выделяют два варианта диацетильного лактококка

Сильные кислотообразователи, повышающие кислотность молока со скоростью (2,0 – 5,0) °Т/час до предельной кислотности, свертывающие молоко при инкубации 1 % через (8 – 12) часов, а при 3 % – через (4 – 9) часов с образованием ровного плотного сгустка с чистым кисломолочным слегка щиплющим вкусом. Данные культуры по большинству свойств сходны с другими лактококками. Отличительной особенностью их метаболизма является способность при развитии в молоке накапливать диацетил и ацетон, а также значительное количество углекислого газа. Некоторые культуры этой группы накапливают в молоке ацетальдегид, придавая ферментируемым молочным продуктам, в том числе сырам, специфический привкус.

Слабые кислотообразователи медленно размножаются в молоке, повышая кислотность до (70 – 100) °Т со скоростью (1,0 – 2,5) °Т/час, свертывающие молоко при инкубации 1 % через (18 – 48) часов, а при 3 % – через (14 – 36) часов с образованием сгустка с наличием пузырьков газа, кисломолочным слегка

щиплющим, иногда сладковатым вкусом, специфическим запахом, обусловленным накоплением диацетила. Использование данных культур в составе закваски позволяет стабилизировать процесс ароматообразования при выработке ферментированных молочных продуктов. Штаммы диацетильного лактококка, относящиеся к слабым кислотообразователям, образуют от 0,14 мг % до 0,75 мг % диацетила [14]. Аналогичные результаты получены бразильскими учеными [86].

Наибольшую практическую ценность представляют штаммы диацетильного лактококка, имеющие одновременно значительную кислото- и газоароматообразующую способность.

Рядом авторов, изучающих качественный и количественный состав аминокислот обменного фонда лактококков, установлено, что диацетильный лактококк содержит значительно больше свободных внутриклеточных аминокислот, чем другие лактококки, что может служить дополнительным признаком при их дифференциации [87, 88].

«Слабые» и «сильные» штаммы диацетильного лактококка отличаются по протеолитической активности в молоке. «Сильные» штаммы диацетильного лактококка подобно другим лактококкам в процессе размножения в молоке снижали содержание растворимых белков и увеличивали содержание пептидов и свободных аминокислот, а «слабые» штаммы, наоборот, увеличивали содержание растворимых белков и снижали содержание пептидов при незначительном увеличении содержания свободных аминокислот. Эта особенность штаммов диацетильного лактококка с низкой скоростью кислотообразования в молоке имеет большое значение для сыроделия, так как горечь в сырах чаще всего связана с образованием горьких пептидов. Включение в состав заквасок для производства сыров «слабых» штаммов диацетильного лактококка уменьшает риск появления горького вкуса [12, 89].

Штаммы диацетильного лактококка с низкой скоростью роста в молоке отличаются от активных штаммов не только протеолитической активностью, но и более высоким уровнем образования диацетила в молоке по отношению к

образованию ацетоина, хотя среди них имеются штаммы, также образующие только небольшие количества диацетила [14].

Для производства созревающих сыров наряду с диацетильным лактококком, в качестве основного газоароматообразующего компонента чаще всего используются лейконостоки. Главным отличием лейконостоков от лактококков является гетероферментативность сбраживания сахаров, в том числе лактозы, с образованием D (-) лактата, этанола и CO₂ в качестве основных продуктов энергетического метаболизма.

При сбраживании цитратов лейконостоки образуют ацетоин и диацетил, играющие важную роль в формировании вкуса, аромата и рисунка в сырах. Ученые Rogacic T. с соавторами оценили потенциал *Leuconostoc* subsp. в производстве ароматических соединений. Было выявлено 12 спиртов, 10 альдегидов, 7 сложных эфиров, 11 кетонов, 5 кислот и 2 соединения серы [90].

Leuconostoc subsp. проявляют и другие ценные технологические свойства, такие как синтез декстрана, что позволяет использовать их в качестве загустителей или текстуризаторов [91].

Лейконостоки способны производить перераспределение продуктов обмена веществ, образуемых лактококками. В частности, при совместном развитии с лактококками они стабилизируют содержание диацетила, снижают уровень ацетальдегида, увеличивают уровень уксусной кислоты и этанола. Таким образом, они также влияют на процесс вкусо-ароматобразования в ферментируемых молочных продуктах [92]. Протеолитическая активность лактококков жизненно важна для *Leuconostoc* subsp., который обычно не обладает протеолитической активностью [93].

Arizcun C., Barcina Y. и Torre P. [94] сообщалось о присутствии *Leuconostoc* subsp. в различных сортах сыров, выработанных из сырого молока, причем *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* и *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* являлись наиболее часто выделяемыми подвидами [94].

Использование весной при выработке сыров заквасок, в которых газообразующие бактерии представлены только лейконостоками, может привести к выработке сыра без рисунка, т.к. в весеннем молоке низкое содержание марганца, в котором нуждаются лейконостоки. В случае медленного развития лейконостоков в сырах процесс сбраживания цитратов замедляется, что активизирует развитие цитратферментирующей микрофлоры не заквасочного происхождения, способной вызывать в сырах пороки вкуса, запаха и рисунка.

Подводя итоги вышесказанного, следует сделать заключение, что газо- и ароматообразующая микрофлора *Leuconostoc* subsp. и *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* является значимой составляющей заквасочной микрофлоры сыров, особенно для сыров с низкой температурой второго нагревания, формируемых из пласта с заданными органолептическими показателями. Однако избыточное содержание газообразующих бактерий в закваске, обусловленное неправильным подбором микрофлоры, может привести к раннему вспучиванию сыра и появлению пороков вкуса и запаха.

1.3 Лактобациллы – дополнительный компонент бактериальных заквасок для производства сыров

Помимо основной кислотообразующей и газо- и ароматообразующей микрофлоры, в состав заквасок для производства созревающих сыров могут входить дополнительные культуры, используемые для усиления тех или иных свойств. В качестве дополнительных культур в составе поливидовых заквасок чаще всего используются мезофильные или термофильные лактобациллы,

Молочнокислые палочки встречаются в смывах молочного оборудования, зерновых и мясных продуктах, воде, сточных водах, пиве, вине, фруктовых соках, соленьях и маринадах, заквасках для теста; кроме того, в ротовой полости, кишечном тракте и влагалище многих теплокровных животных, включая человека [95]. Источником одних лактобацилл являются главным образом молочные продукты (например, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*,

Lactobacillus helveticus и *Lacticaseibacillus casei*), другие обычно обитают в желудочно-кишечном тракте человека и животных, например, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhammosus*, *Lactiplantibacillus plantarum* и *Lactobacillus brevis* обладают поразительной приспособляемостью к самым разным местам обитания [1].

Лактобациллы выявляются в различных местах обитания, где существуют высокие уровни содержания растворимого углевода, продукты распада белка, витаминов и низкое содержание кислорода. Разные виды адаптировались к размножению в самых разных условиях окружающей среды, а при их развитии наблюдается высокий уровень молочнокислого процесса, что снижает pH субстрата и подавляет рост многих бактерий [96].

Лактобациллы обнаруживаются в любом сыре, независимо от их наличия в заквасках [97, 98]. Основным источником обсеменения лактобациллами сыров, вырабатываемых на лактококковых заквасках, является внешняя среда. По данным Martin Dworkin с соавторами молоко при выходе из вымени не содержит лактобацилл, но быстро обсеменяется ими уже на молочных фермах. В молоке высокого бактериального качества от одного стада содержится от 1 КОЕ/см³ до 50 КОЕ/см³ лактобацилл, что намного меньше, чем других молочнокислых бактерий или соизмеримо с их количеством. В сыром сборном молоке при поступлении на молочные заводы обычно содержится от 10³ КОЕ/см³ до 2×10⁴ КОЕ/см³ лактобацилл, но летом их количество может достигать до 10⁵ КОЕ/см³. В сыром молоке доминируют *Lacticaseibacillus casei* и *Lactiplantibacillus plantarum*, изредка встречаются *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum* и другие виды. Количество термофильных лактобацилл в сборном молоке составляет (30 – 50) КОЕ/см³ [95].

Большинство диких штаммов лактобацилл погибает при пастеризации, однако существуют термостойкие формы, входящие в состав остаточной микрофлоры пастеризованного молока и наряду с заквасочными микроорганизмами, являются микрофлорой созревания. После пастеризации источником загрязнения молока лактобациллами в сыре является оборудование и

инвентарь. Лактобациллы могут попадать непосредственно в сыр из рассола вовремя посолки. При современной технике производства выработать в промышленных условиях сыр, не содержащий лактобацилл, крайне затруднительно [99, 100].

Важной особенностью заквасочных микроорганизмов, в том числе лактобацилл, является способность продуцировать внеклеточные протеазы. Эти ферменты катализируют начальные этапы гидролиза молочных белков, снабжая клетку аминокислотами, необходимыми для роста бактерий. Протеазы вместе с пептидазами и системой транспорта пептидов обеспечивают эффективный рост молочнокислых бактерий в среде, богатой белком. Протеазы играют важную роль в созревании сыра, поскольку они способствуют расщеплению молочного белка и, следовательно, влияют на текстуру сыра.

В отличие от лактококков протеолитическая система лактобацилл изучена значительно меньше. Интерес к изучению протеолитической системы лактобацилл в последние годы резко возрос. В исследованиях Fira D с соавторами [101] показано, что протеазы, ассоциированные с клеточной стенкой, являются ключевыми ферментами для катализа первой стадии деградации казеина.

Учеными Pescuma M. с соавторами [102] были проведены работы, нацеленные на исследование способности промышленно значимых видов термофильных лактобацилл гидролизовать белки животного (казеины и β -лактоглобулин) и растительного (соя и пшеница) происхождения, а также влияние содержания пептидов в питательной среде на активность протеаз, ассоциированных с клеточной оболочкой. Были оценены штаммы термофильных лактобацилл видов *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus helveticus*. Все штаммы гидролизовали в основном β -казеин, а деградация α s-казеина зависит от штамма. Напротив, κ -казеин плохо расщеплялся изучаемыми лактобациллами. β -Лактоглобулин в основном гидролизовали штаммы *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* и *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, в то время как штаммы

Lactobacillus acidophilus и *Lactobacillus helveticus* активно гидролизуют соевые белки. Эти исследования подтверждают важность изучения протеолитического разнообразия лактобацилл для рационального отбора штаммов в состав закваски для получения ферментированных молочных продуктов [102].

1.3.1 Мезофильные лактобациллы

Мезофильные молочнокислые палочки отличаются довольно высокой устойчивостью к тепловой обработке [103]. Они не только выдерживают нагревание при выработке мелких сычужных сыров, но и способны размножаться при данных температурах. Andrade-Velasques A. с соавторами доказали, что нижние температурные границы для роста лактобацилл совпадают с нижними температурами созревания мелких сыров [104].

Температуры нагревания при производстве крупных сыров выше максимальных для роста мезофильных лактобацилл, но ниже температур, которые вызывают их гибель. Reale A. с соавторами [105] оценивали способность штаммов *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* и *Lactobacillus rhamnosus* расти при различных температурах. Штаммы подвергали скринингу на способность к росту в интервале от 10 °С до 50 °С в бульоне MRS. Значение максимальной температуры находилось в диапазоне от 37 °С до 50 °С. Большинство штаммов *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* и *Lactobacillus rhamnosus*, выделенных из закваски и сыра (91 %), были способны расти при 10 °С [105].

В исследованиях Jordan K. N., и Cogan T. M. проведена оценка термостойкости культур *Lactobacillus plantarum* при температуре от 50 °С до 56 °С и *Lactobacillus paracasei* при температуре от 50,0 °С до 67,5 °С. Лактобациллы показали признаки повреждения и реактивации, особенно при более высоких температурах. Штаммы, выращенные на молоке, показали большую термостойкость, чем культуры, выращенные в бульоне [106]. Таким образом, с точки зрения температуры, мезофильные лактобациллы могут расти на любом

этапе производства сыров, хотя во время созревания довольно медленно. Повышение температуры созревания в интервале от 10 °С до 15 °С увеличивает скорость размножения и выход биомассы лактобацилл в сырах [14].

Многие штаммы мезофильных лактобацилл слабо гидролизуют казеин. Обогащение молока продуктами гидролиза белков и факторами роста ускоряет рост неактивных в молоке штаммов молочнокислых бактерий. Оптимальный рН для роста лактобацилл находится в интервале (5,5 – 6,0) ед. рН, что значительно ниже, чем рН свежего молока. Лактококки в молоке стимулируют развитие лактобацилл путем образования низкомолекулярных азотистых соединений из казеина и других факторов роста, снижения рН. Интересно, что и в сырах мезофильные лактобациллы при их введении в состав заквасок не увеличивают содержание водорастворимых белков, повышая количество продуктов более глубокого расщепления. Чем выше казеолитическая активность лактококков закваски, тем быстрее размножаются мезофильные лактобациллы в сыре. При автолизе клеток лактококков также высвобождаются вещества, стимулирующие рост лактобацилл [107].

Влияние лактобацилл на развитие лактококков в смешанных культурах в значительной степени зависит от их исходного соотношения и свойств штаммов. При достаточно высокой дозе штаммы лактобацилл с высокой скоростью кислотообразования вытесняют лактококки, благодаря большей устойчивости к рН [14].

Продуцирование молочной кислоты в процессе гликолиза у мезофильных лактобацилл зависит от штамма. Китайскими учеными был идентифицирован штамм *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, производящий высокую концентрацию L (+)-молочной кислоты [108]. По данным Zalan Z. с соавторами [109], состав среды значительно влияет на выработку молочной кислоты штаммами лактобацилл. Проведенные исследования подтвердили различия кислотообразующей активности у штаммов мезофильных лактобацилл [109].

С прекращением увеличения содержания биомассы лактококков заканчивается лактококковая фаза молочнокислого брожения в сыре, но

продолжается фаза развития молочнокислых палочек. Причина продолжения роста лактобацилл в сыре после прекращения роста лактококков объясняется их более высокой кислотоустойчивостью. Лактобациллы используют продукты автолиза клеток заквасочной микрофлоры в качестве источника энергии [110].

Из-за низкого исходного количества и сравнительно небольшой скорости размножения в молоке и сырах наиболее интенсивное накопление биомассы лактобацилл происходит во второй половине созревания, когда соль уже проникла в глубину головки сыра. В работах отечественных и зарубежных авторов по исследованию солеустойчивости лактобацилл было установлено, что концентрация соли в сырах не является препятствием для роста мезофильных лактобацилл [105, 111, 112].

Лактобациллы продуцируют большое количество противомикробных метаболитов, таких как: органические кислоты, жирные кислоты, аммиак, перекись водорода и бактериоцины, которые подавляют рост патогенных бактерий и увеличивают срок хранения пищевых продуктов. В исследованиях Azizi F. [113] проводилась идентификация *Lactobacillus* subsp. выделенных из иранского сыра, выработанного из сырого молока, а также выявление наличия генов бактериоцинов в выделенных штаммах лактобацилл, проявляющих противомикробную активность. По результатам секвенирования были выделены штаммы *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* и *Lactobacillus buchneri* и выявлена антимикробная активность этих штаммов в отношении *Escherichia coli*, *Listeria innocua* и *Staphylococcus aureus* [113].

Для выявления ингибирующей способности молочнокислых бактерий за счет действия веществ-антагонистов против грамположительных и грамотрицательных бактерий Lima E.T. с соавторами [114] было протестировано 474 штаммов лактобацилл. Из 474 штаммов лактобацилл 265 продемонстрировали антимикробную активность в отношении индикаторных микроорганизмов. Штаммы, идентифицированные как *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus plantarum* ингибировали *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes* и *Salmonella* spp. [114].

Известно, что палочка *Lactobacillus plantarum* образует в средах перекись водорода в концентрациях, ингибирующих или подавляющих развитие споровых анаэробных лактатсбраживающих маслянокислых бактерий и энтеробактерий, но не оказывает ингибирующего действия на рост и кислотообразование заквасочных культур. Некоторые штаммы *Lactobacillus plantarum* продуцируют бактериоцины, такие как плантарицин, обладающие широким спектром действия на технически вредную микрофлору [110, 115].

Во ВНИИМС разработаны биологические методы борьбы с поздним вспучиванием сыров, основанные на применении, наряду с основной микрофлорой заквасок, культур, обладающих специфическим антагонистическим действием на возбудителей маслянокислого брожения [116].

По данным ряда исследователей *Lactobacillus plantarum*, кроме антагонистической активности, наряду с бифидобактериями и *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, проявляют пробиотические свойства, благодаря продуцированию ими антибиотических веществ, обеспечивая тем самым профилактику ЖКТ и способствуя улучшению иммунитета [119 - 122].

В качестве дополнительной заквасочной микрофлоры для улучшения органолептических показателей сыров нередко используются, наряду с лактококковой бактериальной закваской для полутвердых сыров, мезофильные лактобациллы вида *Lactobacillus casei* за счет протеолитической способности, характеризующейся высокой пептидазной и аминопептидазной активностью.

У ряда исследователей получен положительный опыт использования мезофильных палочек *Lactobacillus casei* для ускорения созревания сыров и формирования желаемых органолептических свойств. Под действием гомоферментативных мезофильных молочнокислых палочек вида *Lactobacillus casei* в сырах происходит ускорение процессов созревания, смягчение консистенции, уменьшение горечи, что связано с особенностями их протеолитических систем, характеризующихся невысокой скоростью расщепления казеина, но высокой аминопептидазной активностью [123 - 127]. Влияние *Lactobacillus casei* на органолептические показатели нежирного сыра из овечьего

молока изучали Katsiari M. C., Voutsinas [128] и др. Авторы обосновывают выбор культуры ее уникальной сбалансированной аминопептидазной системой и способностью усиливать общую интенсивность аромата сыра, подчеркивая все важные вкусовые ноты, а также свойством подавления нежелательных ароматов и привкусов, таких как кислый, горький и посторонний. В результате опытные сыры с низким содержанием жира, приготовленные с использованием дополнительных культур, получили значительно более высокие оценки за вкус и консистенцию, чем контрольный нежирный сыр в конце срока созревания. Кроме того, сыры с добавлением культуры *Lactobacillus casei* получили оценку вкуса, аналогичную оценке полножирного сыра на основе стандартной лактококковой закваски, но ощутимо уступали ему по реологическим свойствам [128].

Таким образом, многочисленные исследования как отечественных, так и зарубежных авторов показывают положительную роль мезофильных лактобацилл в процессе производства сыров с низкой температурой второго нагревания, которая, в зависимости от вида может проявляться в подавлении посторонней микрофлоры, усилении процессов протеолиза и вкусообразования, а также положительного пробиотического влияния на организм человека.

1.3.2 Термофильные лактобациллы

Термофильные молочнокислые палочки являются активными кислотообразователями. В качестве заквасочных микроорганизмов чаще всего применяют *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*.

Термофильные лактобациллы выдерживают пастеризацию молока, принятую в сыроделии (72 ± 2) °С. Температура II нагревания в производстве крупных сыров равна (48 – 58) °С [4], т. е. близка к максимальной границе для роста термофильных лактобацилл. После II нагревания во время выработки крупных сыров они быстро восстанавливают активность и начинают размножаться во время прессования. Термофильные лактобациллы прекращают размножаться во время

посолки, когда температура сыра снизится до температуры рассола (10 – 12) °С, и возобновляют на какое-то время размножение после помещения сыра в теплую камеру [129, 130].

Lactobacillus helveticus способны сбраживать как лактозу, так и галактозу с образованием D (-) и L (+) – молочной кислоты. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* сбраживают глюкозу до D-молочной кислоты и не способны метаболизировать галактозу [14].

Ученые Charlet M., с соавторами [131] изучали взаимодействие в сырах между термофильными заквасочными микроорганизмами видов *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* и *Lactobacillus delbrueckii*. Двадцать четыре варианта экспериментальных твердых сыров были изготовлены в контролируемых условиях, молоко инокулировано различными комбинациями молочнокислых микроорганизмов. В течение первого дня производства был зафиксирован широкий диапазон различной кинетики роста для каждого используемого вида, а также широкий диапазон pH. Во время производства сыра были обнаружены четыре основных взаимодействия между тремя видами. Был антагонизм между *Lactobacillus helveticus* и *Lactobacillus delbrueckii*. Лактобациллы оказывали положительное влияние на развитие *Streptococcus thermophilus*. Эти взаимодействия имеют большое значение для кинетики роста стрептококков и термофильных лактобацилл при производстве сыра [131].

Важную роль в формировании специфического сырного вкуса в крупных сырах играет высокая протеолитическая активность термофильных лактобацилл, особенно способность высвобождать пролин и другие аминокислоты [132]. По протеолитической активности термофильные лактобациллы намного превосходят термофильный стрептококк и пропионовокислые бактерии. Недостаточный протеолиз приводит к появлению в сырах таких пороков, как слабовыраженный сырный вкус и аромат [133].

По данным Richoux R. с соавторами [134] протеолиз в швейцарском сыре ограничен. Для определения вклада основных агентов протеолиза швейцарского сыра были выработаны экспериментальные сыры с культурой

Lactobacillus helveticus и без неё. Консистенция сыра выработанного со штаммами *Lactobacillus helveticus* была более пластичной, чем в сырах без добавления этой культуры. Эти результаты показывают, что культура *Lactobacillus helveticus* является ключевым фактором при формировании консистенции швейцарского сыра [134, 135, 136].

Lactobacillus helveticus является многофункциональным видом, особенно благодаря своей способности уменьшать горечь и ускорять развитие вкусового букета в сыре, а также из-за способности продуцировать биоактивные пептиды из молочных белков [137, 138].

В технологии сыров с высокой температурой второго нагревания *Lactobacillus helveticus* наряду с другими термофильными палочками (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*) являясь сильным кислотообразователем, выполняет в сырах первоочередную задачу – сбраживание лактозы с образованием молочной кислоты в процессе производства сыров, выдерживая высокие температуры второго нагревания. Тем самым *Lactobacillus helveticus* обеспечивает стабильное протекание молочнокислого процесса и, как следствие, ингибирование роста технически вредной и патогенной микрофлоры, что является необходимым условием получения продукта высокого качества [139]. Стоит отметить, что в отличие от других термофильных палочек, используемых в сыроделии, палочка *Lactobacillus helveticus* способна сбраживать галактозу с образованием D (-) и L (+) молочной кислоты, что в значительной степени уменьшает риск развития посторонней микрофлоры [14].

Кроме выполнения основной функции кислотообразования, представители вида *Lactobacillus helveticus*, благодаря особенностям метаболизма вносят огромный вклад в формирование органолептического профиля сыров, обладающих оригинальным вкусовым букетом [140].

В последнее время наблюдается тенденция к использованию в сыроделии дополнительных заквасочных культур с целью усиления ферментативных процессов и ускорения созревания, а также формирования специфических

органолептических характеристик. Существует практика применения в качестве дополнительных заквасочных культур термофильной палочки *Lactobacillus helveticus*. Мощная протеолитическая система данных микроорганизмов, характеризующаяся аминопептидазной, дипептидазной и протеиназной активностью, способна продуцировать короткие пептиды и высвобождать аминокислоты из казеинового матрикса [141 - 143].

Известно, что молочнокислые микроорганизмы не обладают сильной липолитической активностью. Однако результаты работ Уманского М.С. и Бирман С.Я. [144] показали, что среди заквасочных микроорганизмов в наибольшей степени липолитические свойства выражены у некоторых штаммов *Lactobacillus helveticus*.

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* уже многие годы широко используется в производстве ферментированных молочных продуктов, особенно йогуртов и некоторых видов сыра (сыры с чеддеризацией и термомеханической обработкой сырной массы, некоторые виды рассольных сыров «Брынза» и «Сусанинский»).

Болгарская палочка является сильным кислотообразователем, предельная кислотность в зависимости от штамма колеблется в интервале (200 – 350) °Т [145]. В результате процесса гликолиза данные микроорганизмы продуцируют преимущественно D (-) молочную кислоту, а кроме нее небольшие количества муравьиной и уксусной кислот, ацетальдегида, придающих ферментированным молочным продуктам специфический йогуртовый вкус и аромат [146]. Болгарская палочка выделяет антибиотические вещества. Установлена прямая зависимость энергии кислотообразования и антагонистической активностью болгарской палочки. Е.В. Мельниковой и Н.М. Королевой доказано, что антагонистическое действие стрептококка [146]. действие *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* резко усиливается в присутствии термофильного

Большинство работ по изучению свойств болгарской палочки посвящено использованию данного микроорганизма в составе йогуртов и кисломолочных напитков. Исследования, проведенные Guarner F с соавторами [147], показали,

что употребление кисломолочного продукта, содержащего жизнеспособные клетки *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, улучшает усвоение лактозы и снижает ее непереносимость.

Guglielmotti D. M. с соавторами [148] сообщили, что некоторые штаммы *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* обладают высокими гидрофобностью, активностью β -галактозидазы, толерантностью к лизоциму, сильная антибактериальная активность, проявляемая в отношении патогенов, была обусловлена выработкой молочной кислоты. Также отмечалась низкая резистентность к желчи. Данные, представленные в работе Abedi D [149], свидетельствуют о том, что *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* может ингибировать инфекцию, вызванную *E. coli*.

В настоящее время для придания традиционным продуктам дополнительных функциональных свойств широко используется прием внесения в их состав заквасочных культур, обладающих пробиотическими свойствами. Систематическое употребление в пищу таких продуктов оказывает положительное регулирующее воздействие на определенные процессы в организме человека и тем самым уменьшает отрицательные последствия неправильного питания, а также снижает негативное влияние неблагоприятной экологической обстановки.

При производстве молочной продукции в качестве пробиотической заквасочной микрофлоры используются преимущественно микроорганизмы рода *Bifidobacterium*, однако многолетними научными исследованиями и практическим опытом доказана пробиотическая активность как лактобацилл [150, 151], так и лактококков. Так ацидофильная палочка способна после культивирования в молоке приживаться в кишечнике человека и подавлять развитие патогенных микроорганизмов, что предотвращает развитие гнилостных и бродильных процессов. Кроме того, ацидофильная палочка помогает организму усваивать молочный белок и благоприятствует всасыванию и усвоению солей кальция организмом человека [152, 153].

Включение в состав заквасок для сыров штаммов *Lactobacillus acidophilus* позволяет улучшить биологическую ценность продукта – придать сырам

диетические и пробиотические свойства. В нашей стране созданы виды сыров, при выработке которых используют закваски, содержащие ацидофильную палочку, такие как «Геленджикский», «Масис», «Айболит», «Покровский», «Алтайский кудесник», «Вальмен» и др. [14].

Кроме кислотообразующей и пробиотической активности, штаммы ацидофильной палочки обладают антагонистической активностью относительно ряда патогенных и технически вредных микроорганизмов [4].

Выявление бактерицидных и бактериостатических свойств заквасочных культур лежит в основе разработки биологических способов борьбы с патогенными и технически вредными микроорганизмами, влияющими на снижение безопасности, качества и хранимоспособности ферментированных молочных продуктов.

Что касается штаммов ацидофильной палочки, то для них характерен как специфический антагонизм, осуществляемый путём прямого контакта клеток или воздействием метаболитов, действующих избирательно на определённые виды микроорганизмов, так и насильственный антагонизм, связанный с конкурентной борьбой за источники питания [154, 155].

Активно сбраживая лактозу в молочных продуктах, ацидофильная палочка проявляет насильственный антагонизм, ограничивая при этом развитие не только нежелательных микроорганизмов, например, БГКП, но и молочнокислых бактерий, входящих в состав закваски.

Lactobacillus acidophilus продуцирует антибиотические вещества, такие как лактоцидин и ацидофилин, которые подавляют кишечную палочку, дизентерийные бактерии, сальмонеллы, коагулазоположительные стафилококки и др. микроорганизмы. Также некоторые штаммы ацидофильной палочки способны продуцировать перекись водорода и ряд перекисных соединений, обладающих бактерицидным действием.

Проведенными ранее исследованиями во ВНИИМС было установлено, что при совместном культивировании споровых аэробных микроорганизмов и ацидофильной палочки наблюдается бактерицидный эффект в отношении

споровых аэробных микроорганизмов рода *Bacillus*. Метаболиты, образуемые в процессе развития ацидофильной палочки в молоке, так же обладают бактериостатическим действием. Установлено, что максимальный антагонистический эффект наблюдается при совместном культивировании микроорганизмов за счет конкурентного ингибирования, а антагонистическое действие метаболитов зависит от штамма и времени их накопления [117, 118].

Анализ отечественной и зарубежной литературы не позволяет сделать однозначное заключение о возможности использования термофильных лактобацилл в качестве основной кислотообразующей микрофлоры для интенсификации молочнокислого процесса во время выработки полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания. Данные виды микроорганизмов возможно включать в состав бактериальных заквасок для сыров с низкой температурой второго нагревания только как дополнительные культуры, обладающие защитными и/или пробиотическими свойствами, с учетом показателей кислотообразующей активности, психротрофности, солеустойчивости и метаболическо активности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ОБЗОРУ

Анализ научно – технической литературы показывает, что видовой состав заквасочной микрофлоры для сыров с низкой температурой второго нагревания предполагает обязательное использование кислотообразующих микроорганизмов, таких как *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus cremoris*, и *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis* в качестве газо- ароматобразующего компонента. Использование *Leuconostoc subsp.*, мезофильных, термофильных палочек и *Streptococcus thermophilus* следует рассматривать в качестве дополнительной микрофлоры для усиления органолептических характеристик продукта, ускорения процессов созревания, а также в качестве пробиотических и защитных культур. При этом использование определенного вида заквасочных микроорганизмов зависит от особенностей технологических режимов производства сыра и искомых

органолептических показателей. В доступной литературе не найдено данных, описывающих динамику развития и метаболизм отдельных видов молочнокислых заквасочных культур в модельных молочных средах в условиях имитирующих выработку и созревание полутвердых сыров, а так же в модельных сырах, выработанных с использованием в качестве заквасочных микроорганизмов моновидовых культур, для установления их влияния на ход технологического процесса, формирование органолептических показателей и оценки рисков появления пороков вкуса, консистенции и рисунка.

ГЛАВА 2 МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ, СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Организация экспериментальных работ

Работа выполнена во Всероссийском научно-исследовательском институте маслоделия и сыроделия – филиале Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН в рамках темы № 0585-2019-0010.

Методология организации работы предусматривала: ретроспективный поиск и анализ литературных источников по теме исследований, формулирование цели исследований, постановку задач исследований для реализации поставленной цели, подготовку методической базы исследований, проведение исследований, включающих экспериментальные выработки сыров, анализ и математическую обработку полученных результатов, разработку технической документации.

На первом этапе проведен анализ литературных источников, освещающих вопросы особенностей развития, метаболизма и практического использования различных видов заквасочных микроорганизмов значимых для сыроделия.

Экспериментальная часть работы включала в себя несколько этапов:

- изучение видовых и штаммовых особенностей развития и метаболизма основных видов заквасочных культур в молочных средах при условиях, моделирующих режимы выработки и созревания сыров, для последующей оценки возможности прогнозирования и подбора культур в состав бактериальных заквасок, с учетом особенностей технологических режимов производства сыров;
- проведение выработок сыров с использованием производственных заквасок, приготовленных из смеси штаммов моновидовых культур, для оценки возможности их развития и кислотообразования в процессе выработок;
- изучение влияния условий созревания на микробиологические, физико-химические и биохимические показатели полутвердых сыров с низкой

температурой второго нагревания, выработанных с использованием штаммов конкретных видов заквасочных микроорганизмов;

- оценка органолептических характеристик сыров, выработанных с использованием конкретных видов заквасочных микроорганизмов.

Заключительный этап предусматривал статистическую обработку и анализ полученных результатов; разработку методических положений: МП 021-2023 «Общие и специфические требования к бактериальным закваскам с учетом состава микрофлоры, количества жизнеспособных клеток, физического состояния и особенностей технологии производства сыров».

Организация проведения экспериментальных работ приведена на схеме (рисунок 2.1)

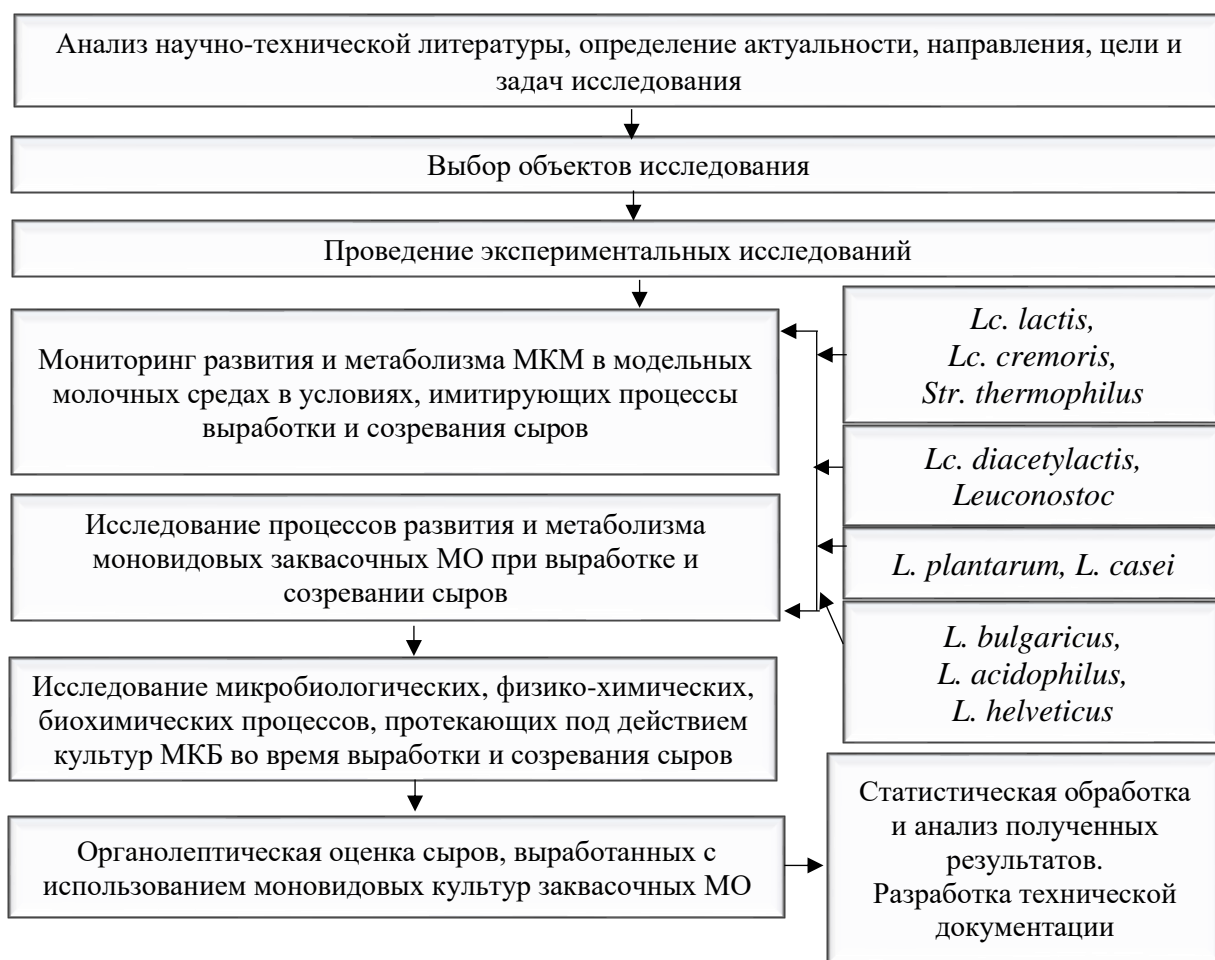


Рисунок 2.1 – Общая схема проведения исследований

2.2 Организация проведения исследований

2.2.1 Объекты исследований

В соответствии с целями и задачами объектами исследования являлись:

- коллекционные штаммы молочнокислых заквасочных микроорганизмов: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* – 10 штаммов, *Lactococcus cremoris* – 10 штаммов, *Streptococcus thermophilus* – 10 штаммов, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* – 15 штаммов, *Leuconostoc* subsp. – 15 штаммов, *Lactiplantibacillus plantarum* – 8 штаммов, *Lacticaseibacillus casei* – 10 штаммов, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* – 8 штаммов, *Lactobacillus acidophilus* – 10 штаммов, *Lactobacillus helveticus* – 10 штаммов;
- модельные молочные среды: 10 % стерильное восстановленное молоко (режим стерилизации $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ с выдержкой 15 мин.) (№ 1); 10 % стерильное

восстановленное молоко с добавлением МСФ (№ 2); 10 % стерильное восстановленное молоко с добавлением 4 % NaCl в жидкой молочной среде, что условно соответствует 2,5 % соли в твердой фазе сыра (№ 3);

- молоко коровье сырое;
- пастеризованное молоко для выработки сыра до и после внесения заквасочных культур;
- заквасочные культуры, подготовленные на стерильном молоке;
- молочная смесь (нормализованное и пастеризованное молоко) для выработки сыра после внесения заквасочных культур в дозе заражения активной молочной культурой на уровне 10^6 КОЕ/см³;
- сырное зерно;
- модельные сыры после прессования и в процессе созревания, представляющие собой сыры, выработанные в экспериментальных условиях из молока, соответствующего требованиям безопасности и сыропригодности, выработанные по технологии сыра Голландского с использованием моновидовых культур МКМ.

2.2.2 Контролируемые показатели и методы контроля

Динамику развития и метаболизм отдельных видов молочнокислых микроорганизмов контролировали как в модельных молочных средах, так и в модельных полутвердых сырах с низкой температурой второго нагревания по следующим показателям:

- микробиологические показатели, включающие параметры роста, по контролю жизнеспособных клеток и расчету кинетических показателей, а также контроль бактериального пейзажа в молоке, молочной смеси и сырах в процессе созревания;
- физико-химические показатели, включающие контроль сыропригодных свойств молока; титруемую и активную кислотность, количество: сухих веществ, влаги, соли;

- биохимические показатели, включающие контроль лактозы и продуктов ее гидролиза (глюкоза, галактоза, молочная кислота), протеолиза и накопление летучих вкусоароматических веществ;

- органолептические показатели, включающие оценку внешнего вида, вкуса, консистенции и рисунка.

При выполнении экспериментальной части работы использованы стандартные и специальные методы исследований. Перечень используемых стандартных методов приведен в таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Стандартные методы испытаний

Показатели	Объекты исследований	Методы исследований
Антибиотики	молоко коровье сырое	Иммунологическими методами по ГОСТ 32219-2013
Сычужная проба	молоко коровье сырое	ГОСТ 32901-2014
Ингибирующие вещества	молоко коровье сырое	ГОСТ 23454-2016
Количество соматических клеток	молоко коровье сырое	ГОСТ 23453-2014
Количество спор мезофильных анаэробных лактатсбраживающих бактерий	молоко коровье сырое	ГОСТ 32012-2012
Количество спор аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов	молоко коровье сырое; молочная смесь для выработки сыра до и после внесения чистых кутьтур МКМ	ГОСТ 32901-2014
Титруемая кислотность	модельные молочные среды; 16 часовая культура МКМ на молоке	ГОСТ Р 54669-2011
Активная кислотность	молочная смесь (нормализованное молоко) для выработки сыра после внесения 16 часовой культуры МКМ на молоке; сыры после прессования и в процессе созревания	ГОСТ 32892-2014
Газообразующая активность	модельные молочные среды; 16 часовая культура МКМ на молоке;	МР 2.3.2.2327-08 Методические рекомендации по организации производственного микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности

Продолжение таблицы 2.1

Показатели	Объекты исследований	Методы исследований
Ароматообразующая активность	модельные молочные среды; 16 часовая культура МКМ на молоке;	МР 2.3.2.2327-08 Методические рекомендации по организации производственного микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности
Количество молочнокислых микроорганизмов	молочная смесь для выработки сыра до и после внесения 16 часовой культуры МКМ на молоке; 16 часовая культура МКМ на молоке; сыры после прессования и в процессе созревания	ГОСТ ГОСТ 33951—2016
КМАФАнМ	молоко коровье сырое;	ГОСТ 32901-2014
КМАрФАнМ	модельные молочные среды; молочная смесь для выработки сыра после внесения 16 часовой культуры МКМ на молоке; 16 часовая культура МКМ на молоке; сыры после прессования и в процессе созревания	ГОСТ 34372-2017
КТАФАнМ	модельные молочные среды; молочная смесь для выработки сыра после внесения 16 часовой культуры МКМ на молоке; производственная закваска; сыры после прессования и в процессе созревания	ГОСТ 33951 - 2016
БГКП	молочная смесь для выработки сыра до и после внесения 16 часовой культуры МКМ на молоке; сыры после прессования и в процессе созревания	ГОСТ 32901-2014
Количество дрожжей	молочная смесь для выработки сыра до и после внесения 16 часовой культуры МКМ на молоке; сыры после прессования и в процессе созревания	ГОСТ 33566-2015

Продолжение таблицы 2.1

Показатели	Объекты исследований	Методы исследований
Количество плесневых грибов	молочная смесь для выработки сыра до и после внесения 16 часовой культуры МКМ на молоке; сыры после прессования и в процессе созревания	ГОСТ 33566-2015
Выявление бактерий рода Salmonella	молоко коровье сырое; молочная смесь для выработки сыра до и после внесения 16 часовой культуры МКМ на молоке	ГОСТ 31659-2012
Массовая доля влаги и сухого вещества	сыры после прессования и в процессе созревания	Методом высушивания при температуре 102 °С по ГОСТ Р 55063-2012
Массовая доля жира	сыры после прессования и в процессе созревания	Кислотным методом по ГОСТ 5867-90, ГОСТ Р 55063-2012
Массовая доля поваренной соли	сыры после прессования и в процессе созревания	Титриметрическим методом с азотнокислым серебром по ГОСТ 33569-2015
Массовая доля общего белка	сыры после прессования и в процессе созревания	ГОСТ Р 54662-2011 методом Кьельдаля
Массовая доля растворимого белкового азота	сыры после прессования и в процессе созревания	МИ «Определение массовой доли водорастворимого белка в продуктах сыроделия методом Кьельдаля», св-во. 1-02-53-2016
Органолептические показатели	сыры в процессе созревания	С использованием 100-балльной шкалы по ГОСТ 33630-2015

Газообразующую активность заквасочных микроорганизмов определяли двумя способами по поднятию сгустка во время нагревания (МР 2.3.2.2327-08) и при помощи сосуда Дунбара в стерильную жидкую питательную среду на основе гидролизованного бульона, обогащенного лимоннокислым натрием, разлитую в пробирки по (15 ± 2) см³ и подогретую до температуры культивирования, вносится петлей молочная культура, тщательно перемешивается и стерильно переносится в сосуд Дунбара. Сосуд помещают в термостат в строго вертикальном положении при 30 °С на 7 суток. Ежедневно отмечают объем выделенного газа, выраженный в делениях шкалы сосуда (см).

Молекулярно-массовое распределение растворимых азотистых соединений в водном экстракте определяли методом гель-фильтрации высокого

разрешения с использованием колонки Superose 12 10/300 GL (GE Healthcare, Швеция). Подготовка образца для гель-фильтрации включает обезжиривание пробы, взятие навески обезжиренной пробы, растворение ее в растворе буфера, отделение нерастворимых в воде фракций фильтрованием или центрифугированием. Элюент – водный раствор 0,05 М Na_2HPO_4 + 0,15 М NaCl , скорость подачи элюента – 0,5 мл/мин; длина волны детектора – 280 нм. Калибровку колонки проводили по времени выхода белковых веществ с известной молекулярной массой: IgG (180 кДа), альдолаза (158 кДа), BSA (69 кДа), овоальбумин (43 кДа), β -Lg (36,0 кДа), α -La (14,4 кДа), цитохром С (12,3 кДа), триптофан (0,204 кДа).

Определение степени протеолиза осуществляли расчетным способом, основанным на анализе количественного соотношения водорастворимых фракций белка к общему количеству белка. Измерение массовой доли общего белка и водорастворимого белка осуществляется по стандартизованной методике на основе метода Кьельдаля.

Определение массовой доли лактозы, галактозы, глюкозы и молочной кислоты проводили при помощи системы капиллярного электрофореза.

Вкусоароматический профиль сыров определяли по содержанию летучих ароматообразующих веществ в паровой фазе сыров. Качественный анализ вкусоароматических веществ в паровой фазе сыра проводили с использованием газового хроматографа «Цвет-800» (Россия) и устройства для равновесного пара «Фаза» (Россия). Метод основан на термостатировании пробы продукта в замкнутом сосуде с последующим газохроматографическим определением в паровой фазе пробы продукта индивидуальных компонентов летучих вкусоароматических веществ и их идентификации. Условия проведения анализа: колонка стеклянная, длина 2 м, внутренний диаметр 2 мм, насадка OV-210 на хроматроне N-AW-HMD (0.16-0.20 мм); температура термостатирования колонок – 50 °С; температура испарителя – 80 °С; температура переходной камеры – 60 °С; расход газа-носителя – 30 см³/мин; водорода – 30 см³/мин; воздуха – 300 см³/мин. Анализировали пробу исследуемого объекта массой 3 г, предварительно нагретую на водяной бане до

50 °С. Непосредственно перед проведением анализа пробу встряхивали для установления термодинамического равновесия. Длительность анализа 900 сек. Обработку полученных данных проводили методом внутренней нормализации с помощью программы «Цвет-Аналитик» (Россия) с последующей идентификацией.

На основании полученных результатов в модельных молочных средах и в реальных условиях выработки рассчитывали кинетические параметры роста (скорость деления (v), время генерации (g) и количество клеточных делений (n)) исследуемых видов заквасочных микроорганизмов в модельных молочных средах и в сырах после пресса. Расчеты проводились по формулам:

$$V = \lg N - \lg N_0 / \lg 2 * (t - t_0) \quad (1)$$

где V – константа скорости деления;

N и N_0 – количество клеток в момент времени;

t и t_0 продолжительность логарифмической фазы роста культуры.

$$g = 1/V \quad (2)$$

где g – время генерации;

V - константа скорости деления.

$$n = \frac{\lg N - \lg N_0}{\lg 2} \quad (3)$$

где n – количество клеточных делений;

N и N_0 – количество клеток в момент времени.

Математическая обработка данных. Исследования проводили не менее чем в 3-кратной повторности. Математическую обработку результатов и построение графиков осуществляли с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2010. Для попарного сравнения выборок и оценки статистически значимых различий между образцами применяли HSD тест (критерий Тьюки). Уровень значимости принимали как $p \leq 0,05$.

2.2.3 Организация контроля молочных сред

Количество жизнеспособных клеток, а также кислотообразующую активность по титруемой кислотности, в модельных молочных средах при развитии

в них отдельных видов молочнокислых микроорганизмов оценивали в динамике, отбирая пробы:

- в модельной молочной среде № 1 и № 2 в 0; 1; 3 и 6 часов;
- в модельной молочной среде № 1 и № 3 в 0; 6; 24; 48; 72; 96 и 168 часов.

Модельные молочные среды с внесенными МКБ культивировали:

Модельная молочная среда № 1:

- при оптимальных температурах роста (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Leuconostoc* subsp. *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lacticaseibacillus casei* – при (30 ± 1) °C; *Lactobacillus acidophilus* – при (37 ± 1) °C; *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus* – при (40 ± 1) °C;
- при температуре свертывания (31 ± 1) °C;
- в динамике: выдержка 1 час при температуре свертывания (31 ± 1) °C, затем осуществлялось второе нагревание (41 ± 1) °C с выдержкой в течение 1 час и дальнейшее охлаждение до (30 ± 1) °C;
- при температуре посолки и созревания (11 ± 1) °C.

Модельная молочная среда № 2:

- в динамике: выдержка 1 час при температуре свертывания (31 ± 1) °C, затем осуществлялось второе нагревание (41 ± 1) °C с выдержкой 1 час и дальнейшее охлаждение до (30 ± 1) °C;

Модельная молочная среда № 3:

- при оптимальных температурах роста;
- при температуре посолки и созревания (11 ± 1) °C.

2.2.4 Технологический регламент выработки модельных полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания, формуемых из пласта, вырабатываемых с моновидовыми заквасочными культурами

Выработки сыров проведены в условиях экспериментального цеха ВНИИМС, по единой технологической схеме производства полутвердого сыра

Голландский с массовой долей жира в сухом веществе 45 %. Формование сырной массы осуществляли из пласта. Посолку сыров проводили в рассоле.

Выработки проводились из молока, полученного от коров хозяйств Ярославской области, соответствующего как общим критериям качества, так и специфическим критериям сыропригодности.

Сыры вырабатывались из молока, пастеризованного при температуре (72 ± 1) °С с выдержкой (20 – 25) секунд. В подготовленную к свертыванию смесь при температуре (31 ± 1) °С вносили 16 часовую культуру МКМ на уровне 10^6 КОЕ/см³, приготовленную на стерильном молоке и состоящую из комбинации трех штаммов конкретного вида/подвида, а также молокосвертывающий ферментный препарат (сычужный фермент). В выработках сыров в качестве исследуемой микрофлоры применялись моновидовые культуры: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Leuconostoc* subsp., *Lacticaseibacillus casei*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus helveticus*.

Продолжительность свертывания смеси – (45 ± 1) минут. После постановки зерно вымешивалось (23 ± 1) минуты до начала второго нагревания. Готовность зерна к второму нагреванию определяли, оценивая его по плотности, упругости и форме. Температура второго нагревания была выбрана (41 ± 1) °С, с общей продолжительностью выдержки (30 ± 1) минут. Окончание обсушки зерна определялось по его упругости. Сыр формовался из пласта. Масса головки после прессования $(5\pm 0,2)$ кг. После прессования сыры солились в рассоле с концентрацией (18–20) % при температуре (11 ± 1) °С. Продолжительность посолки составила (23 ± 1) часа. После посолки и обсушки сыры помещались в камеру созревания с температурой воздуха (11 ± 1) °С на 60 суток созревания.

ГЛАВА 3 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

3.1 Мониторинг развития и метаболизма молочнокислых заквасочных микроорганизмов в модельных молочных средах для прогнозирования их влияния на процессы выработки и созревания сыров

В рамках первого этапа исследований изучены видовые и штаммовые особенности развития и метаболизма основных видов заквасочных культур в молочных средах, моделирующих условия выработки и созревания сыров, для последующей оценки возможности прогнозирования и научно обоснованного подбора культур в состав бактериальных заквасок, с учетом особенностей технологических режимов производства сыров.

3.1.1 Исследование динамики развития и метаболизма основной кислотообразующей микрофлоры *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus thermophilus* в модельных молочных средах при оптимальной температуре культивирования и в условиях, имитирующих процесс выработки сыра

Проведена на модельных молочных средах оценка влияния технологически значимых факторов производства сыров, таких как температура свертывания и второго нагревания, использование сычужного фермента, режимов посолки и созревания на развитие и метаболизм микроорганизмов, являющихся основными кислотообразующими компонентами закваски. На графиках представлены средние значения динамики количества жизнеспособных клеток и показатели метаболизма лактозы (по изменению титруемой кислотности), с учетом реального времени воздействия.

Средние значения показателей изменения количества жизнеспособных клеток и титруемой кислотности при развитии культур в модельных молочных средах, сконструированных как с использованием МСФ, так и без МСФ, при

температуре свертывания смеси $(31\pm 1)^\circ\text{C}$ и температуре второго нагревания $(41\pm 1)^\circ\text{C}$ представлены на рисунках 3.1 – 3.6.

Средние значения показателей развития и метаболизма для *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* представлены на рисунках 3.1 и 3.2.

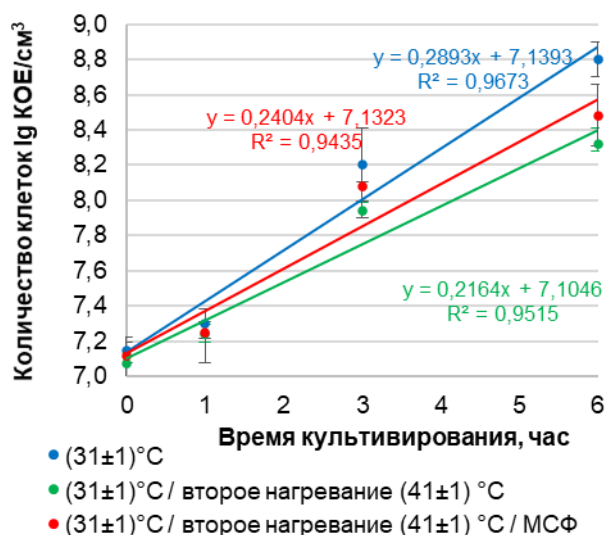


Рисунок 3.1 – Средние значения динамики изменения количества жизнеспособных клеток, lg КОЕ/см³

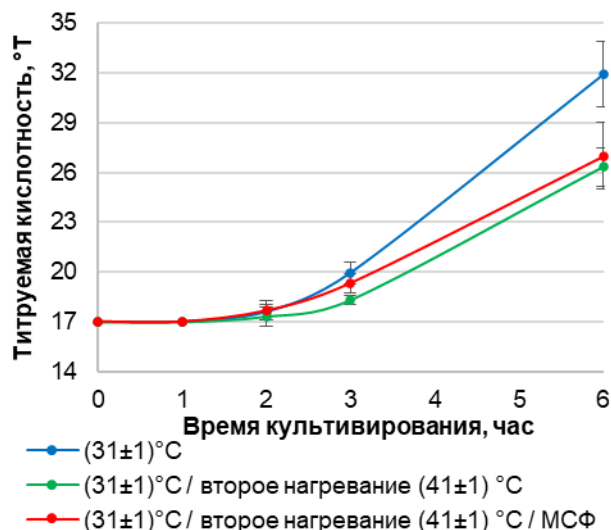


Рисунок 3.2 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности, (°Т)

Анализ полученных результатов, представлен

ных на рисунках 3.1 и 3.2, показывает, что все испытанные штаммы *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* независимо от фактора воздействия развиваются с минимальными отклонениями между кривыми роста. Через 1 час культивирования при температуре $(31\pm 1)^\circ\text{C}$ (время свертывания и начала обработки сгустка) во всех вариантах, отмечается увеличение жизнеспособных клеток в клеточной популяции на $(0,3\pm 0,1)$ порядка от исходного количества, однако нарастания кислотности за данный период времени не выявлено. После второго нагревания при $(41\pm 1)^\circ\text{C}$ к 6 часам интенсивность развития и метаболизма относительно роста при температуре $(31\pm 1)^\circ\text{C}$ снижается не зависимо от наличия МСФ на 0,5 порядка и на $(5\pm 1)^\circ\text{T}$.

Средние значения показателей развития и метаболизма *Lactococcus cremoris* представлены на рисунках 3.3 и 3.4.

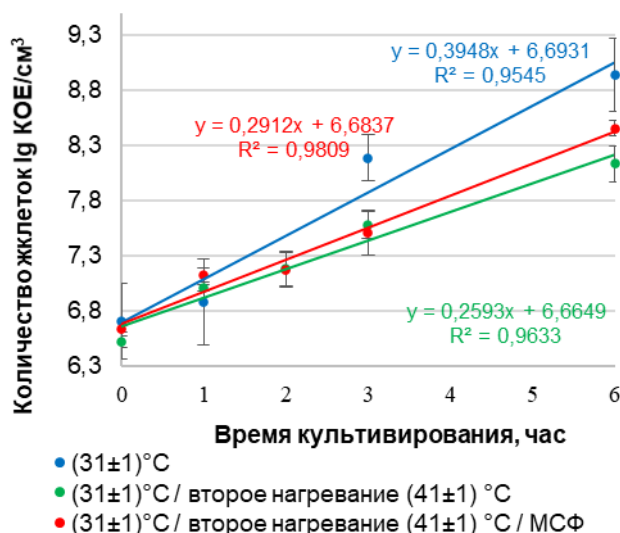


Рисунок 3.3 – Средние значения динамики изменения количества жизнеспособных клеток, lg КОЕ/см³

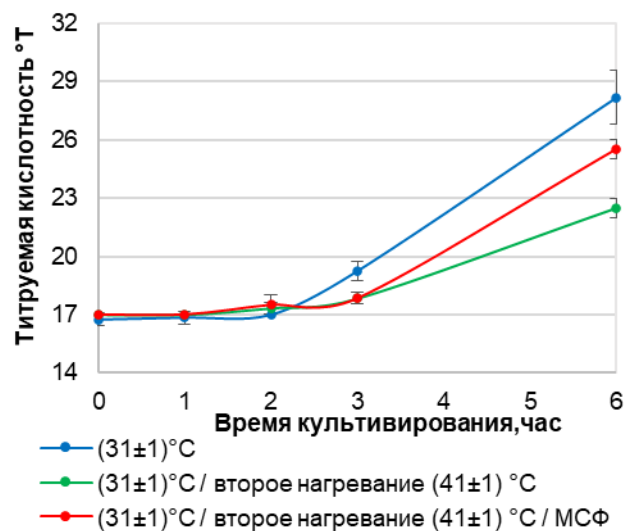
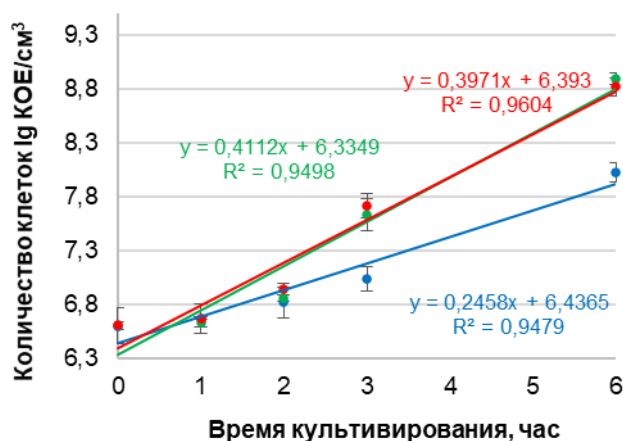


Рисунок 3.4 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности, (°Т)

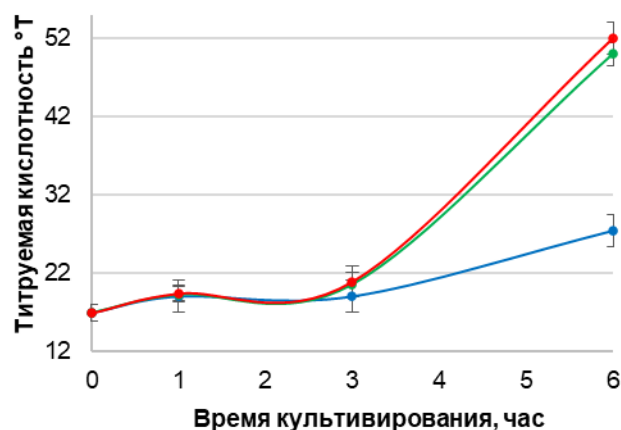
Данные, представленные на рисунках 3.3 – 3.4, свидетельствуют, что, штаммы *Lactococcus cremoris* интенсивно развиваются и сбраживают лактозу при (31±1) °С. После воздействия температуры второго нагревания (41±1) °С наблюдается существенное снижение скорости развития и кислотообразования относительно оптимальной температуры культивирования, причем при наличии в молочной среде МСФ процесс развития и метаболизма идет несколько интенсивнее. Таким образом, исходя из культуральных свойств развитие штаммов *Lactococcus cremoris*, имеющих максимальную температуру роста (36 – 39) °С, при температуре 2 нагревания (41±1) °С останавливается, а после снижения температуры возобновляется, но не достигает уровня развития при оптимальной температуре.

Средние значения показателей развития и метаболизма *Streptococcus thermophilus* представлены на рисунках 3.5 и 3.6.



- (31±1)°C
- (31±1)°C / второе нагревание (41±1) °C
- (31±1)°C / второе нагревание (41±1) °C / МСФ

Рисунок 3.5 – Средние значения динамики изменения количества жизнеспособных клеток, lg КОЕ/см³



- (31±1)°C
- (31±1)°C / второе нагревание (41±1) °C
- (31±1)°C / второе нагревание (41±1) °C / МСФ

Рисунок 3.6 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности, (°Т)

Данные, представленные на рисунках 3.5 – 3.6, показывают, что все исследованные штаммы *Streptococcus thermophilus* начинают более интенсивно развиваться при переходе от температуры свертывания (31±1) °C к температуре второго нагревания (41±1) °C. К окончанию наблюдения, т.е. к 6 часам, повышение температуры приводит к разнице в количестве жизнеспособных клеток на порядок. Кривые кислотообразования, отражающие скорость метаболизма лактозы, показывают, что ускорение процесса гликолиза происходит при повышении температуры до температуры второго нагревания (41±1) °C. К 6 часам культивирования титруемая кислотность в вариантах с температурой (41±1) °C составила (50±3) °Т, а при температуре свертывания только (27±2) °Т. Полученные результаты подтверждают данные об увеличении скорости развития и метаболизма *Streptococcus thermophilus* в молочной среде при повышении температуры до температуры второго нагревания, в отличие от реакции на повышение температуры лактококков. Это обусловлено тем, что оптимальной температурой развития *Streptococcus thermophilus* является (40 – 45) °C.

3.1.2 Исследование влияния температуры созревания, соли и их взаимодействие на динамику развития и метаболизм заквасочных микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus thermophilus* в модельной молочной среде

В данной серии экспериментов проведена попытка смоделировать в молочной среде развитие основных кислотообразующих заквасочных микроорганизмов в условиях созревания сыра, т.е. после посолки и при температуре созревания. Средние значения изменения количества жизнеспособных клеток производственных штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus thermophilus* и кислотообразующей активности при температуре свертывания (30 ± 1) °С и температуре созревания сыров (11 ± 1) °С, а также концентрации поваренной соли 4 % в молочной среде, что соответствует концентрации соли в жидкой фазе сыров, представлены на рисунках 3.7 – 3.12.

Средние значения показателей развития и кислотообразования *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* представлены на рисунках 3.7 и 3.8.

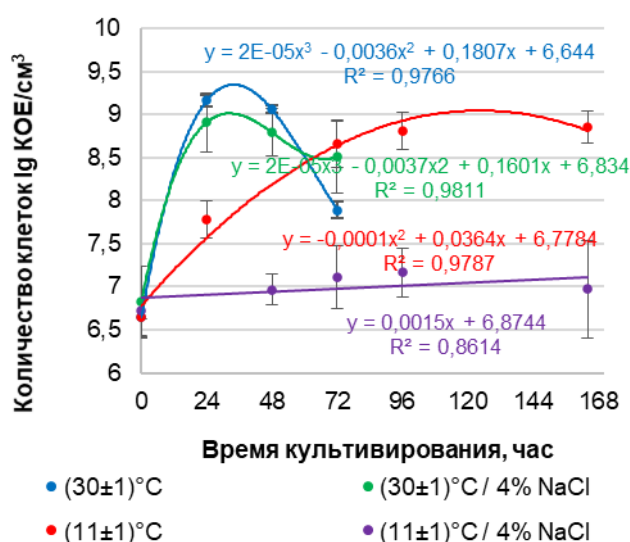


Рисунок 3.7 – Средние значения динамики изменения количества жизнеспособных клеток, lg КОЕ/см³

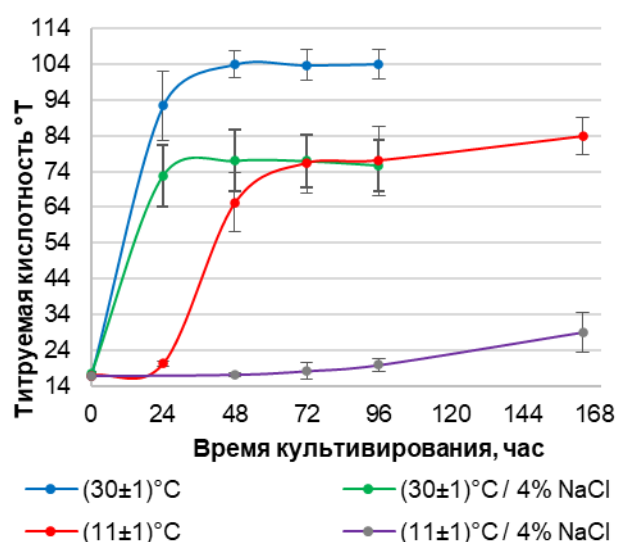


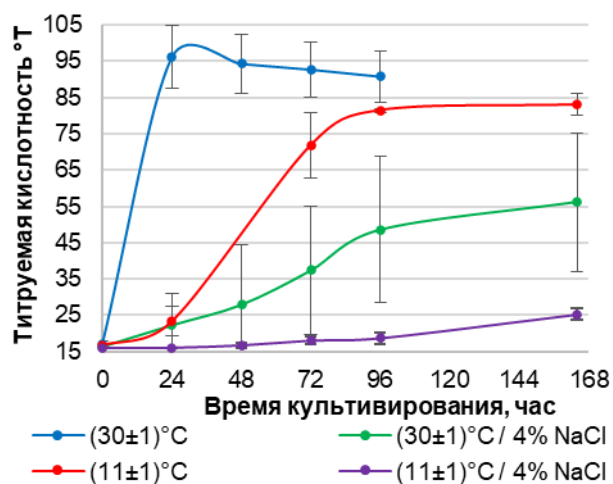
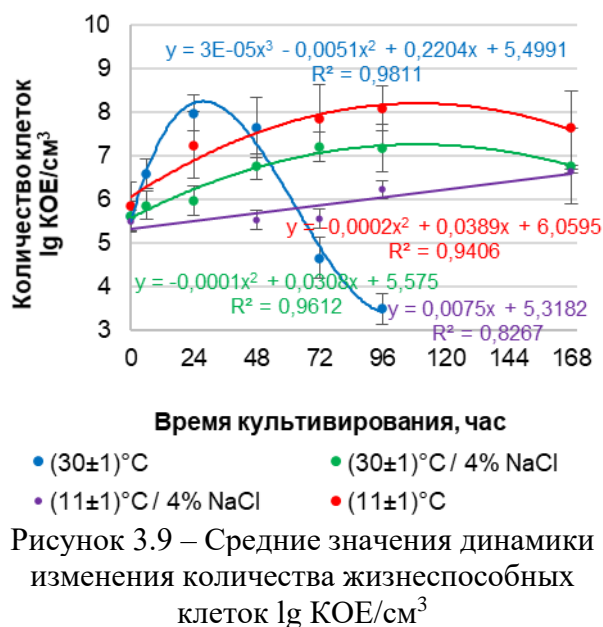
Рисунок 3.8 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности, (°Т)

Результатов, представленные на рисунках, свидетельствует, что все испытанные штаммы *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* при оптимальных

температурных режимах достигают максимального урожая клеток к 24 часам развития, который превышает по количеству жизнеспособных клеток показатель 10^9 КОЕ/см³. При культивировании штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* в оптимальных режимах и добавлении в молочную среду поваренной соли в концентрации 4 % интенсивность развития жизнеспособных клеток снижается на полпорядка. При (11 ± 1) °С интенсивность развития объективно снижается и процессы замедляются. Максимальный урожай клеток для всех испытанных штаммов достигается только к (84 – 96) часам культивирования и уменьшается по количеству жизнеспособных клеток примерно на полпорядка. Что касается возможности развития культур при (11 ± 1) °С и концентрации соли 4 %, то все испытанные штаммы *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* при сочетании факторов, моделирующих условия созревания в молочной среде, практически не размножаются т.е. увеличение количества жизнеспособных клеток наблюдается только через 7 суток.

Кислотообразующая активность штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* в оптимальных температурных режимах достигает максимума титруемой кислотности к 48 часам культивирования незначительно превышая 105 °Т. При культивировании в оптимальных режимах и добавлении 4 % NaCl максимум титруемой кислотности достигается, как и в контроле к 48 часам культивирования, но составляет лишь (75 ± 10) °Т. При (11 ± 1) °С интенсивность метаболических процессов, параллельно с интенсивностью роста и развития снижается. Максимальная кислотность молочной среды достигается за 7 суток культивирования и колеблется от 80 °Т до 90 °Т. При (11 ± 1) °С и концентрации NaCl 4 % метаболические процессы, как и процессы размножения для всех штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* крайне замедляются, но не останавливаются, к 7 суткам культивирования увеличение клеточной популяции составляет $(0,45 \pm 0,1)$ порядка, а показатель титруемой кислотности увеличивается на (12 ± 5) °Т.

Средние значения показателей развития и кислотообразования для *Lactococcus cremoris* представлены на рисунках 3.9 и 3.10.



Данные, представленные на рисунках 3.9 и 3.10, показывают, что все испытанные штаммы *Lactococcus cremoris* при оптимальных температурных режимах достигают максимального урожая клеток к 24 часам развития в молочной среде, уровень которого соответствует 10^8 КОЕ/см³. Следует отметить, что разброс между штаммами по количеству жизнеспособных клеток в определенный момент времени, даже в оптимальных условиях, существенный, что говорит о различии в потенциале роста между штаммами данного подвида лактококков. При культивировании штаммов *Lactococcus cremoris* в оптимальных режимах и добавлении в молочную среду 4 % NaCl интенсивность развития штаммов снижается, максимальный урожай клеточной популяции достигается к 96 часам культивирования и колеблется от $1,0 \times 10^7$ до $5,0 \times 10^7$ КОЕ/см³. При (11±1) °C количество жизнеспособных клеток плавно растет до 4 суток, а затем популяция переходит на стадию вымирания, но процессы вымирания идут крайне медленно, практически оставаясь на уровне стационарной фазы. Что касается возможности развития штаммов *Lactococcus cremoris* в условиях созревания сыра, но в молочной среде, то количество жизнеспособных клеток к 7 суткам культивирования увеличивается лишь на (0,8±0,1) порядка.

Кислотообразующая активность испытуемых штаммов *Lactococcus cremoris* в оптимальных температурных режимах, колеблется незначительно и достигает

максимума титруемой кислотности к 24 часа культивирования и незначительно превышает 95 °Т. При культивировании штаммов *Lactococcus cremoris* в оптимальных температурных режимах и добавлении в молочную среду 4 % NaCl разброс данных прироста титруемой кислотности значителен: максимальные значения достигаются к 7 суткам культивирования и колеблется от 37 °Т до 75 °Т. При (11±1) °С и 4 % NaCl в молочной среде метаболические процессы гидролиза лактозы у всех штаммов *Lactococcus cremoris* крайне замедлены и к 7 суткам прирост титруемой кислотности составил лишь (11±1) °Т.

Средние значения показателей развития и кислотообразования для штаммов *Streptococcus thermophilus* представлены на рисунках 3.11 и 3.12.

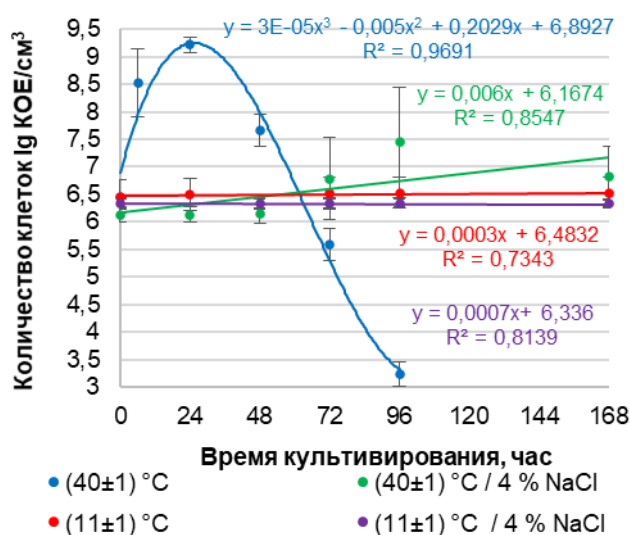


Рисунок 3.11 – Средние значения динамики изменения количества жизнеспособных клеток, lg КОЕ/см³

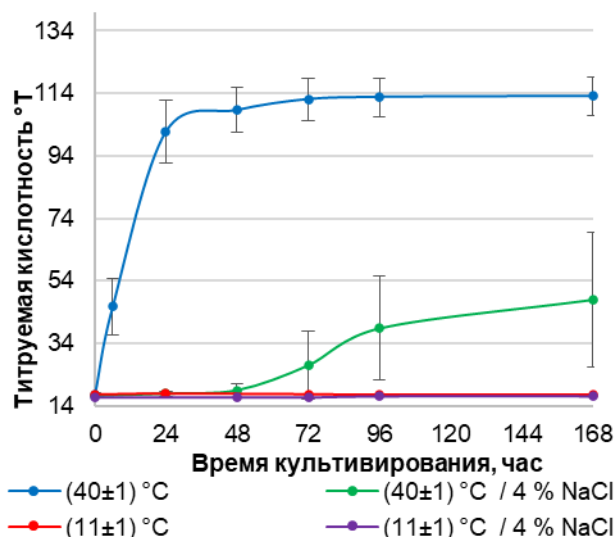


Рисунок 3.12 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности, (°Т)

Экспериментальные результаты, представленные на рисунках 3.11 и 3.12 показывают, что все испытанные штаммы *Streptococcus thermophilus* при оптимальных температурных режимах развиваются с минимальными отклонениями от средних значений. Максимальный урожай клеток для ряда штаммов достигается к 6 – 8 часам культивирования, а для других к 18 – 24 часам. При этом для всех исследованных штаммов максимальный урожай клеток составляет более 10⁹ КОЕ/см³. После достижения максимума развития штаммы переходят к стадии вымирания, минуя стационарную фазу. Скорость вымирания

клеток при оптимальных температурах культивирования высокая, и к 96 часам с момента начала культивирования количество жизнеспособных клеток снижается на 5 – 6 порядков и составляет 10^3 КОЕ/см³. При оптимальных температурах с добавлением в молочную среду 4 % NaCl рост клеточной популяции снижается, максимальный урожай клеток достигается к 96 часам и увеличивается примерно на порядок. Разброс данных между штаммами значителен. При (11 ± 1) °C культивирования в молочных средах как с 4 % NaCl, так и без соли, в отличие от лактококков, все без исключения штамма *Streptococcus thermophilus* не размножаются, о чем свидетельствует полное отсутствие увеличения количества жизнеспособных клеток.

Кислотообразующая активность испытуемых штаммов *Streptococcus thermophilus* в оптимальных температурных режимах колеблется незначительно и достигает максимума после 24 часов. Значения титруемой кислотности в оптимальных условиях в среднем составляет (105 ± 10) °Т. Наличие 4 % NaCl существенно замедляет процесс кислотообразования, а температура (11 ± 1) °C полностью приостанавливает.

3.1.3 Исследование динамики развития и метаболизма газо- и ароматообразующей микрофлоры заквасочных микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp. в модельных молочных средах при оптимальной температуре культивирования и в условиях, имитирующих процесс выработки сыра

Средние значения показателей динамики изменения количества жизнеспособных клеток и кислотообразующей активности *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Leuconostoc* subsp. в модельных молочных средах при температуре свертывания (31 ± 1) °C и температуре второго нагревания (41 ± 1) °C, а так же при использовании МСФ представлены на рисунках 3.13 – 3.16.

Средние значения показателей развития и метаболизма для *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* представлены на рисунках 3.13 и 3.14.

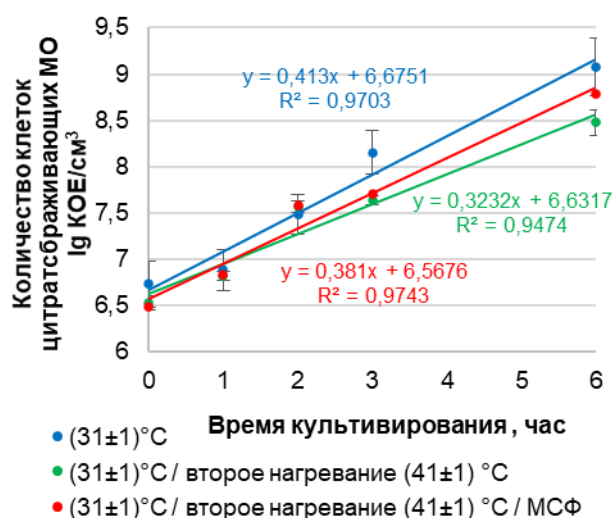


Рисунок 3.13 – Средние значения динамики изменения количества цитратсбраживающих микроорганизмов lg КОЕ/см³

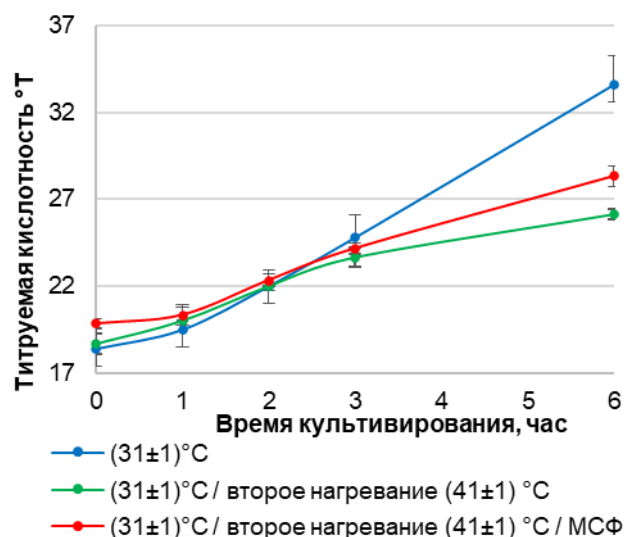


Рисунок 3.14 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности, (°Т)

Анализ результатов, представленных на рисунках 3.13 - 3.14, свидетельствует, что все испытанные штаммы *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* при оптимальных температурных режимах культивирования развиваются и метаболизируют лактозу идентично с минимальными отклонениями между штаммами от средних значений для данного вида. К 6 часам культивирования максимальное количество клеток составило $(1,5 \pm 0,2) \times 10^9$ КОЕ/см³. Значение титруемой кислотности к концу срока наблюдения составило (34 ± 2) °Т. После проведения операции, имитирующей второе нагревание, в вариантах как с ферментом, так и без фермента отмечается незначительное снижение клеточной популяции и метаболизма лактозы. Причем в варианте с использованием ферментного препарата процессы развития и кислотообразования шли несколько интенсивнее.

Средние значения показателей развития и метаболизма для *Leuconostoc* subsp. представлены на рисунках 3.15 и 3.16.

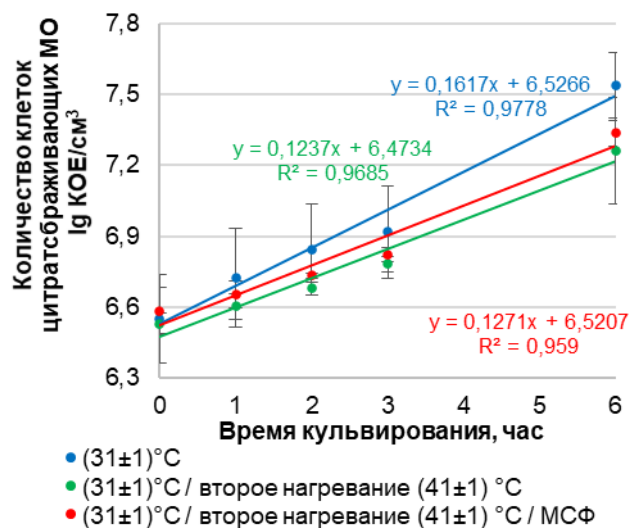


Рисунок 3.15 – Средние значения изменения количества цитратсбраживающих микроорганизмов lg КОЕ/см³

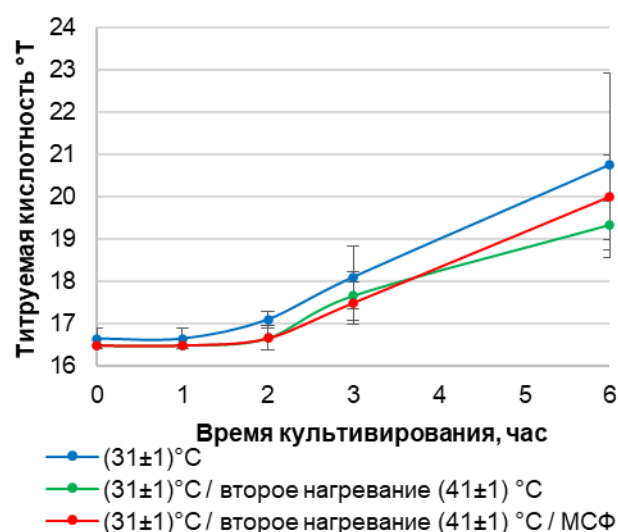


Рисунок 3.16 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности, (°Т)

Экспериментальные данные показывают, что развитие и метаболизм штаммов *Leuconostoc subsp.* при температуре свертывания зависит от штамма. К концу срока наблюдения, т.е к 6 часам, что соответствует времени окончания выработки сыра, количество жизнеспособных клеток *Leuconostoc subsp.* и значение титруемой кислотности увеличилось соответственно на 1 порядок и $(5 \pm 3) ^\circ\text{T}$.

3.1.4 Исследование влияния температуры созревания, соли и их взаимодействие на динамику развития и метаболизм микроорганизмов *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis* и *Leuconostoc subsp.* в модельной молочной среде

Средние значения динамики изменения количества жизнеспособных клеток *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis*, *Leuconostoc subsp.* и кислотообразующей активности при оптимальной температуре $(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$ и температуре созревания сыров $(11 \pm 1) ^\circ\text{C}$, а также концентрации поваренной соли 4 % в молочных средах, представлены на рисунках 3.17 – 3.20.

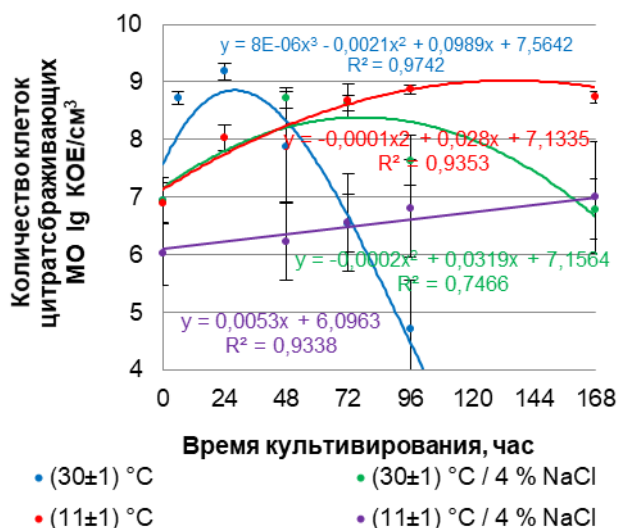


Рисунок 3.17 – Средние значения изменения количества цитратсбраживающих микроорганизмов lg КОЕ/см³

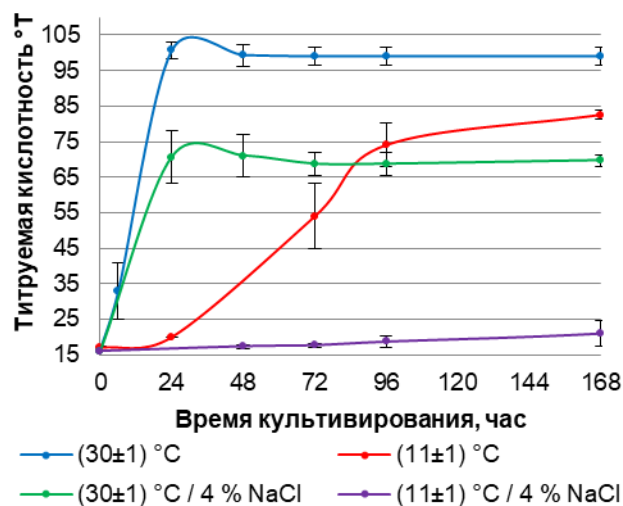


Рисунок 3.18 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности, (°T)

Результаты, представленные на рисунках 3.17 – 3.18, свидетельствует, что все испытанные штаммы *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* в оптимальных температурных режимах в молосной среде достигают максимального урожая клеток к 24 часам развития, что составляет $(1,0 \pm 0,5) \times 10^9$ КОЕ/см³. Скорость вымирания клеток значительна и к 96 часам с момента начала культивирования объем клеточной массы снижается на шесть порядков.

При добавлении 4 % NaCl и культивировании при оптимальных температурах рост клеточной популяции всех исследуемых штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* достигает максимального урожая клеток к 48 часам культивирования и снижается до $(7,5 \pm 0,5) \times 10^8$ КОЕ/см³. Вымирание клеточной популяции происходит гораздо медленнее, чем в контрольной среде и к 7 суткам общее количество жизнеспособных клеток уменьшается на 1 порядок.

При (11 ± 1) °C интенсивность развития культур снижается и процессы замедляются. Однако нет явного максимума развития и количество жизнеспособных клеток плавно растет до (72 – 96) часов, а затем практически оставаясь на стационарной фазе. Максимальный урожай клеток для всех испытанных штаммов достигается к 96 часам культивирования.

Что касается возможности развития *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* при $(11\pm 1)^\circ\text{C}$ и 4 % NaCl, то все испытанные штаммы проявляют слабую психротрофность и солеустойчивость для размножения при данной температуре и концентрации NaCl, т.е. увеличение количества жизнеспособных клеток наблюдается только к 7 суткам и составляет $(1,5\pm 0,4) \times 10^7$ КОЕ/см³.

В оптимальных температурных режимах и при концентрации NaCl 4 % кислотообразующая активность у штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* колеблется незначительно и достигает максимума к 24 часам культивирования в молочной среде, что составляет 60 °Т – 70 °Т. При $(11\pm 1)^\circ\text{C}$ интенсивность процесса кислотообразования, как и размножения, значительно снижается: максимум титруемой кислотности достигается через 7 суток и составляет 78 °Т – 87 °Т в зависимости от штамма. При $(11\pm 1)^\circ\text{C}$ и концентрации NaCl 4 % процессы сбраживания лактозы практически отсутствуют, что говорит о критичности температуры в совокупности с данной концентрацией поваренной соли для осуществления процессов жизнедеятельности штаммами *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*.

Средние значения показателей развития и кислотообразования для вида *Leuconostoc* subsp. представлены на рисунках 3.19 и 3.20.

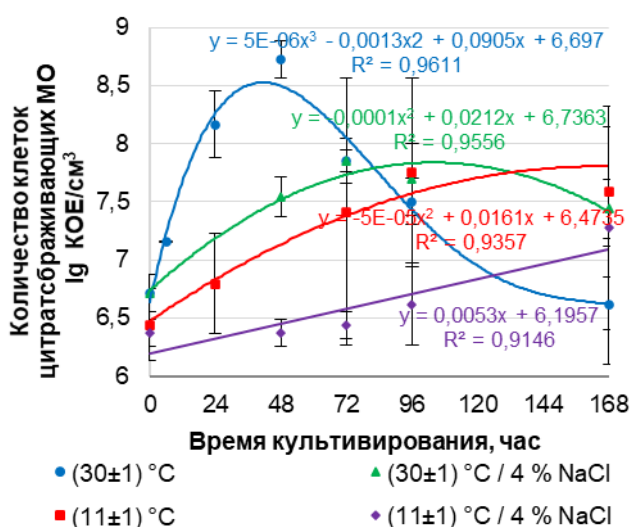


Рисунок 3.19 – Средние значения изменения количества цитратсбраживающих микроорганизмов lg КОЕ/см³

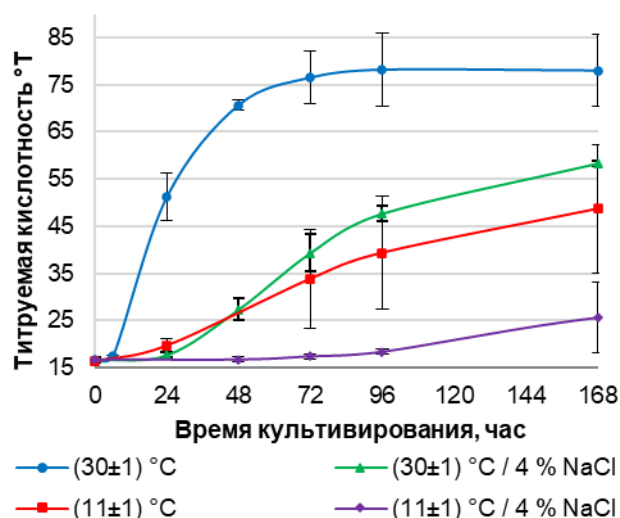


Рисунок 3.20 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности, (°Т)

Анализ полученных результатов, представленных на рисунках 3.19 – 3.20, свидетельствует, что интенсивность развития штаммов *Leuconostoc subsp.* при оптимальных температурных режимах зависит от конкретного штамма. Максимальный урожай клеток достигается к 48 часам развития культур в молочной среде и по количеству жизнеспособных клеток составляет $(7,0 \pm 2,0) \times 10^8$ КОЕ/см³ в зависимости от штамма. Процесс вымирания идет постепенно и к 7 суткам культивирования остаточное количество жизнеспособных клеток составляет $10^6 - 10^7$ КОЕ/см³. При (31 ± 1) °С и концентрации поваренной соли 4 % интенсивность развития клеточной популяции снижается относительно контрольной молочной среды без добавления соли: максимальный урожай клеток достигается к 72 часам культивирования и составляет $(9,4 \pm 2,2) \times 10^7$ КОЕ/см³. До конца периода наблюдения процессы вымирания практически не наблюдаются. При (11 ± 1) °С процессы развития замедляются. Однако за период наблюдения количество жизнеспособных клеток плавно растет и к 4 суткам составляет в зависимости от конкретного штамма $(6,2 \times 10^7 - 6,9 \times 10^8)$ КОЕ/см³. Что касается возможности развития *Leuconostoc subsp.* при (11 ± 1) °С и концентрации поваренной соли 4 %, то для всех штаммов наблюдается незначительный рост, что выражается в увеличении количества жизнеспособных клеток на порядок к 7 суткам культивирования. Следовательно, в зависимости от штаммовой принадлежности, степень психротрофности и солеустойчивости *Leuconostoc subsp.* может быть различной.

Кислотообразующая активность у штаммов *Leuconostoc subsp.* в оптимальных температурных режимах, достигает максимума к 4 суткам культивирования и составляет (76 ± 10) °Т в зависимости от штамма. При (31 ± 1) °С и концентрации поваренной соли 4 % кислотообразующая активность *Leuconostoc subsp.* достигает максимума к 7 суткам культивирования и составляет (58 ± 2) °Т. При (11 ± 1) °С интенсивность процесса кислотообразования снижается: максимум титруемой кислотности достигается через 7 суток и составляет в зависимости от штамма только (48 ± 13) °Т. При (11 ± 1) °С и концентрации поваренной соли 4 %, наряду с незначительным ростом клеточной популяции к

концу периода наблюдения, метаболические процессы для всех штаммов *Leuconostoc* subsp. практически отсутствуют.

3.1.5 Исследование динамики газо– и ароматообразования культурами *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp. в модельных молочных средах при температуре сквашивания и температуре созревания сыров

Данные, представленные в таблице 3.1, свидетельствуют, что при определении количества выделяемого газа по поднятию сгустка штаммами *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* при (30 ± 1) °C его количество к 7 суткам культивирования колебалось от 0,6 см до 1,3 см в зависимости от штамма, а при (11 ± 1) °C от 0,3 см до 0,7 см.

Таблица 3.1 – Динамика газо- (см) и ароматообразования (наличие диацетила и ацетоина по пробе КОН, усл. ед) заквасочных микроорганизмов видов *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp. при разных температурных режимах

Условия культивирования	Время культивирования, час	Исследуемая микрофлора					
		<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i>			<i>Leuconostoc</i> subsp.		
		Газообразующая активность (см)		Ароматизирующая активность (у. е.)	Газообразующая активность (см)		Ароматизирующая активность (у. е.)
по поднятию сгустка	в сосудах Дунбара	по поднятию сгустка	в сосудах Дунбара				
(31 ± 1) °C	0	0	0	0	0	0	0
	24	0,6±0,1	0	4,1±0,3	0,3±0,2	0	0
	48	0,6±0,1	0,5±0,2	4,5±0,5	1,3±0,9	1,3±0,8	0
	72	0,6±0,1	0,8±0,5	4,5±0,5	1,7±1,1	3,6±2,0	0
	96	0,7±0,2	1,1±0,6	4,5±0,5	1,9±1,2	4,2±2,1	0
	168	0,9±0,3	1,1±0,9	4,20±0,4	2,1±1,2	4,5±2,2	0
	0	0	-	0	0	-	0
(11 ± 1) °C	24	0	-	0	0	-	0
	48	0,2±0,1	-	3,6±0,6	0	-	0
	72	0,2±0,1	-	3,8±0,6	0	-	0
	96	0,5±0,1	-	3,8±0,5	0,5±0,5	-	0
	168	0,5±0,2	-	4,0±0,6	0,9±0,2	-	0

Объемы выделяемого газа штаммами *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactilis*, получаемые при помощи сосудов Дунбара, были несколько выше, чем по поднятию сгустка. Так, к 7 суткам культивирования количество газа колебалось от 0,2 см до 2,0 см, что показывает значительные различия между штаммами *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactilis*, по газообразующей активности.

Объем выделяемого газа в результате процесса метаболизма лактозы и цитратов штаммами *Leuconostoc* subsp. несколько выше, чем у штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactilis* и к 7 суткам культивирования при $(31 \pm 1)^\circ\text{C}$ составляет в зависимости от штамма по поднятию сгустка от 0,9 см до 3,3 см, а в сосудах Дунбара от 2,3 см до 6,7 см. При $(11 \pm 1)^\circ\text{C}$ максимальное количество газа через 7 суток культивирования колеблется в зависимости от штамма от 0,2 до 1,7 см.

Все исследованные штаммы как *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactilis*, так и *Leuconostoc* subsp. в процессе роста на среде КМАФАНМ с цитратом кальция дают зоны просветления, т.е. метаболизируют цитраты. Установлено, что все испытанные штаммы *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactilis* метаболизируют цитраты с образованием диацетила и ацетоина. При оптимальной температуре развития $(31 \pm 1)^\circ\text{C}$ максимальное количество диацетила и ацетоина накапливается к 48 часам культивирования, что соответствует 4 – 5 у.е., а при $(11 \pm 1)^\circ\text{C}$ максимум достигается через 7 суток культивирования и достигает в зависимости от штамма 3 – 5 у.е.

У всех исследуемых штаммов *Leuconostoc* subsp. ароматобразующих веществ, таких как диацетил и ацетоин, определяемых по пробой с КОН не выявлено. Метаболизм цитратов штаммами *Leuconostoc* subsp. идет по циклу Крепса и служит для получения энергии, в то время как у штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactilis* процессы разложения цитратов проходят по дополнительному циклу с образованием диацетила и ацетоина.

3.1.6 Исследование динамики развития и метаболизма заквасочных микроорганизмов видов *Lactiplantibacillus plantarum* и *Lacticaseibacillus casei* в модельных средах при оптимальной температуре культивирования и в условиях, имитирующих процесс выработки сыра

Средние значения показателей динамики роста и кислотообразующей активности *Lactiplantibacillus plantarum* и *Lacticaseibacillus casei* в модельных молочных средах при температуре свертывания $(31 \pm 1)^\circ\text{C}$, температуре второго нагревания $(41 \pm 1)^\circ\text{C}$ и в присутствии МСФ представлены на рисунках 3.21 – 3.24. Средние значения показателей для штаммов *Lactiplantibacillus plantarum* представлены на рисунках 3.21 и 3.22

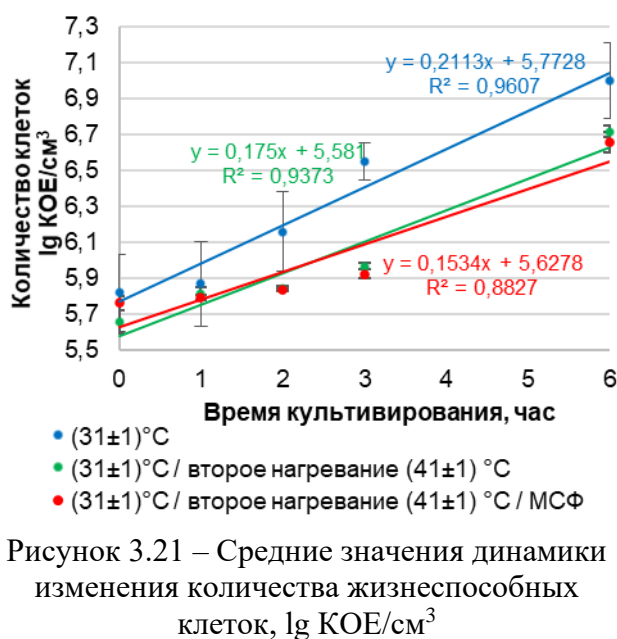


Рисунок 3.21 – Средние значения динамики изменения количества жизнеспособных клеток, lg КОЕ/см³

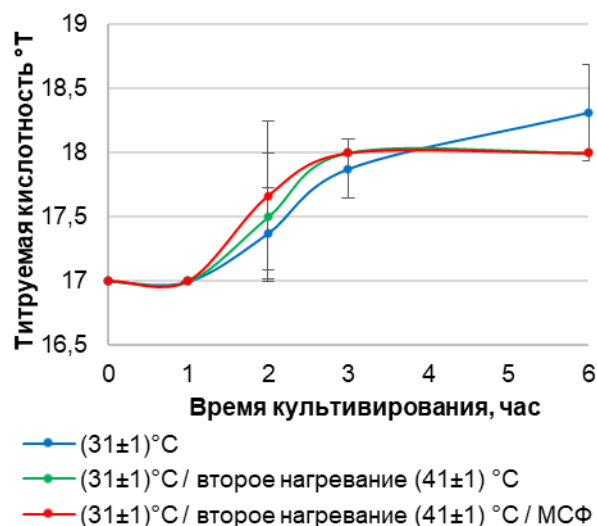


Рисунок 3.22 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности, (°Т)

Анализ полученных результатов, представленных на рисунках 3.21 – 2.22 свидетельствует, что за 6 часов культивирования при $(31 \pm 1)^\circ\text{C}$ количество жизнеспособных клеток штаммов *Lactiplantibacillus plantarum* увеличилось на $(1,0 \pm 0,2)$ порядка, а прирост титруемой кислотности составил $(2,0 \pm 0,5)^\circ\text{T}$. В первый час развития, т.е. до начала второго нагревания, значимых различий между вариантами не наблюдается, а в дальнейшем при увеличении температуры до температуры второго нагревания $(41 \pm 1)^\circ\text{C}$ отмечалось снижение как скорости

роста, так и метаболизма лактозы. Добавление в молочную среду МСФ не повлияло на процессы развития, и кислотообразования.

Средние значения показателей роста и кислотообразования для штаммов *Lacticaseibacillus casei* представлены на рисунках 3.23 и 3.24

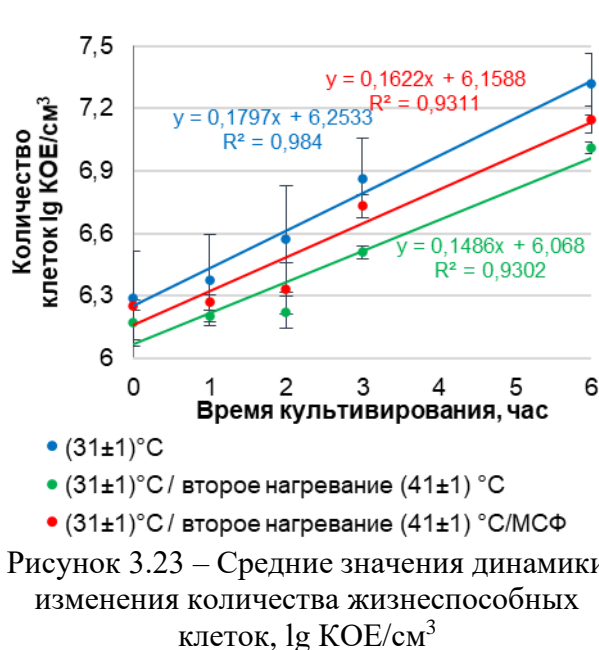


Рисунок 3.23 – Средние значения динамики изменения количества жизнеспособных клеток, lg КОЕ/см³

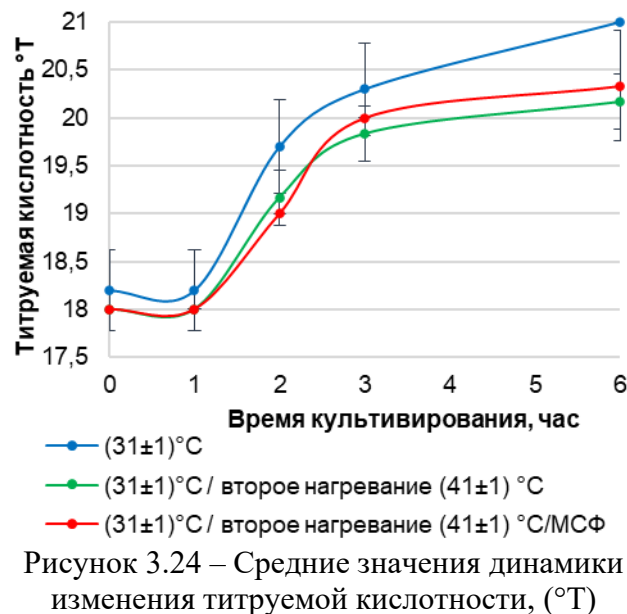


Рисунок 3.24 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности, (°Т)

Полученные результаты, представленные на рисунках 3.23 – 3.24 позволяют сделать выводы, что температура второго нагревания (41±1) °C не значительно снижает скорость развития и кислотообразования *Lactobacillus casei*.

3.1.7 Исследование влияния температуры созревания, соли и их взаимодействие на динамику развития и метаболизм заквасочных микроорганизмов *Lactiplantibacillus plantarum* и *Lacticaseibacillus casei* в модельной молочной среде

Средние значения динамики изменения количества жизнеспособных клеток *Lactiplantibacillus plantarum* и *Lacticaseibacillus casei* и кислотообразующей активности культур при температуре сквашивания молока (31±1) °C и температуре созревания сыров (11±1) °C, а также концентрации поваренной соли 4 % в модельной молочной среде представлены на рисунках 3.25 – 3.28. Средние

значения показателей для вида *Lactiplantibacillus plantarum* представлены на рисунках 3.25 и 3.26.

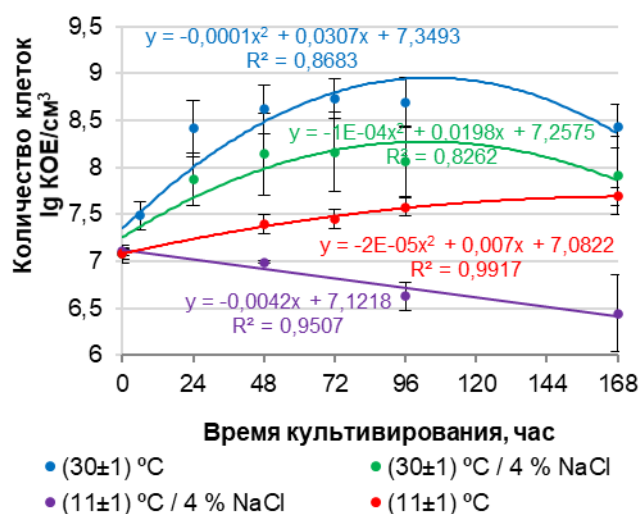


Рисунок 3.25 – Средние значения динамики изменения количества жизнеспособных клеток, lg КОЕ/см³

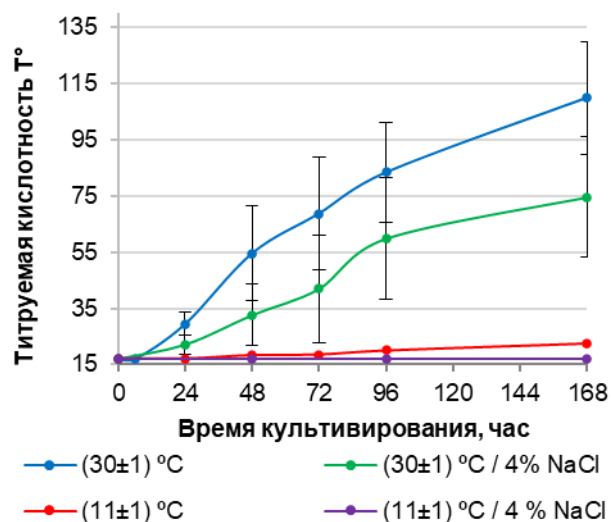


Рисунок 3.26 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности, (°Т)

Анализ полученных результатов, представленных на рисунках 3.25 и 3.26 показывает, что максимальный урожай клеток при (30±1) °С достигается к 72 часам развития культур, что значительно медленнее, чем скорость развития лактококков и термофильного стрептококка, и колеблется от 5×10^8 КОЕ/см³ до 1×10^9 КОЕ/см³ в зависимости от штамма. Процесс вымирания идет постепенно к 7 суткам культивирования количество клеток снижается на 1 порядок. При (11±1) °С интенсивность развития замедляется, но не приостанавливается. Динамика развития *Lactiplantibacillus plantarum* при данной температуре дает основание полагать, что при созревании сыров процессы развития культур будут проходить, но с несколько меньшей интенсивностью, чем в оптимальных температурных режимах.

Процесс сбраживания лактозы штаммами *Lactiplantibacillus plantarum* в оптимальных температурных режимах, достигает максимума к 7 суткам культивирования и колеблется в диапазоне от 80 °Т до 125 °Т в зависимости от штамма. При (11±1) °С интенсивность процесса кислотообразования снижается.

При концентрации соли 4 % в молочной среде интенсивность развития штаммов *Lactiplantibacillus plantarum* и кислотообразующая активность снижаются

незначительно, однако разброс значений значителен и, следовательно, можно говорить, что при данной концентрации солеустойчивость является штаммовым признаком. При взаимодействии факторов температуры созревания сыра (11 ± 1) °C и концентрации соли 4 % все без исключения штаммы *Lactiplantibacillus plantarum* не развиваются, а к 96 часам культивирования наблюдается снижение клеточной популяции. Процессы кислотообразования не наблюдаются.

Средние значения показателей роста и кислотообразования для штаммов *Lactocaseibacillus casei* представлены на рисунках 3.27 и 3.28.

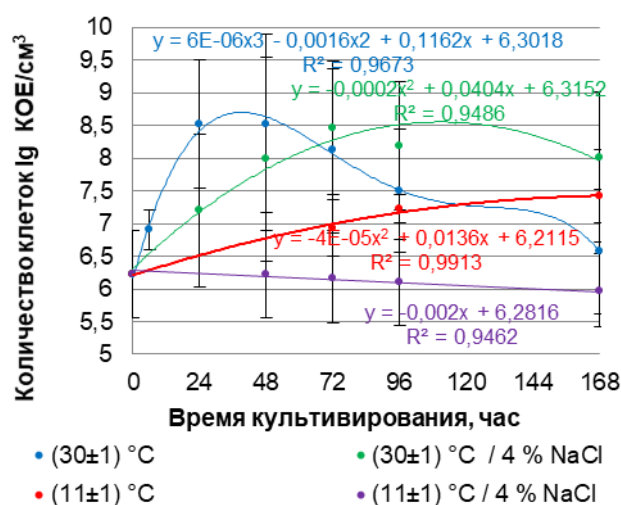


Рисунок 3.27 – Средние значения динамики изменения количества жизнеспособных клеток, lg КОЕ/см³

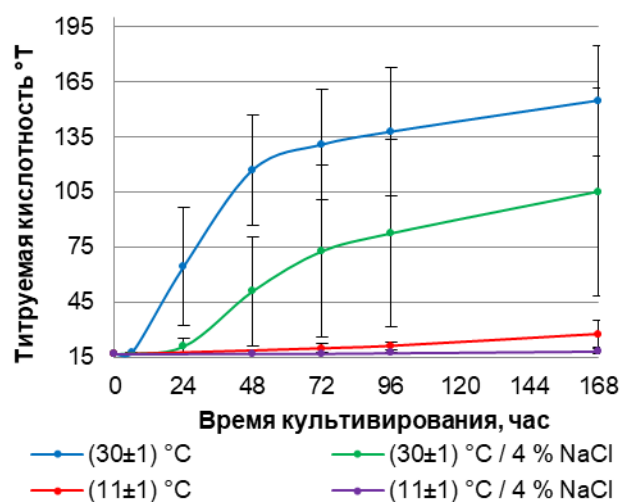


Рисунок 3.28 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности, (°T)

Анализ полученных результатов, представленных на рисунках 3.27 – 3.28, свидетельствует, что максимальный урожай клеток при температуре (31 ± 1) °C достигается к 48 часам культивирования, что так же значительно медленнее, чем скорость развития лактококков и термофильного стрептококка, но быстрее, чем развитие штаммов мезофильных лактобацилл *Lactiplantibacillus plantarum*. Урожай жизнеспособных клеток колеблется в зависимости от штамма в интервале от $9,0 \times 10^7$ КОЕ/см³ до $5,5 \times 10^9$ КОЕ/см³. Полученные данные позволяют сделать вывод о значительных штаммовых различиях параметров роста в пределах вида. При (11 ± 1) °C интенсивность развития значительно снижается, но не приостанавливается и до конца периода наблюдения отмечается прирост клеточной популяции на (0,5 – 1,5) порядка. Следовательно, в зависимости от штаммовой принадлежности,

степень психротрофности *Lacticaseibacillus casei* может быть существенной и превосходит психротрофность лактококков, хотя интенсивность развития микроорганизмов данного вида при $(11 \pm 1)^\circ\text{C}$ незначительна.

Штаммы *Lacticaseibacillus casei* очень различаются по скорости кислотообразования в молоке. Для большинства штаммов максимум кислотности наблюдается на (4 – 7) сутки культивирования, при этом кислотность одних составляет на максимуме (70 – 80) °Т, а для других она достигает 180 °Т. Снижение температуры культивирования до $(11 \pm 1)^\circ\text{C}$ приводит к значительному снижению интенсивности процессов кислотообразования для всех штаммов *Lacticaseibacillus casei*.

При концентрации соли 4 % в молочной среде процессы развития штаммов *Lacticaseibacillus casei* значительно замедляются, однако уровень чувствительности к наличию соли в среде зависит от штамма. Аналогичное влияние соли мы наблюдаем, исследуя процессы кислотообразования. При взаимодействии одновременно температуры созревания сыра – $(11 \pm 1)^\circ\text{C}$ и соли 4 %, все без исключения штаммы не развиваются и процессы сбраживания лактозы отсутствуют.

3.1.8 Исследование динамики развития и метаболизм штаммов заквасочных микроорганизмов *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus helveticus* в модельных молочных средах при оптимальной температуре и в условиях, имитирующих процесс выработки сыров

Средние значения показателей динамики развития и кислотообразующей активности штаммов *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus helveticus* в модельных молочных средах при температуре свертывания $(31 \pm 1)^\circ\text{C}$, температуре второго нагревания $(41 \pm 1)^\circ\text{C}$ и внесении МСФ представлены на рисунках 3.29 – 3.34. Средние значения показателей для штаммов *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* представлены

на рисунках 3.29 и 3.30; для штаммов *Lactobacillus acidophilus* представлены на рисунках 3.31 и 3.32, для штаммов *Lactobacillus helveticus* представлены на рисунках 3.33 и 3.34.

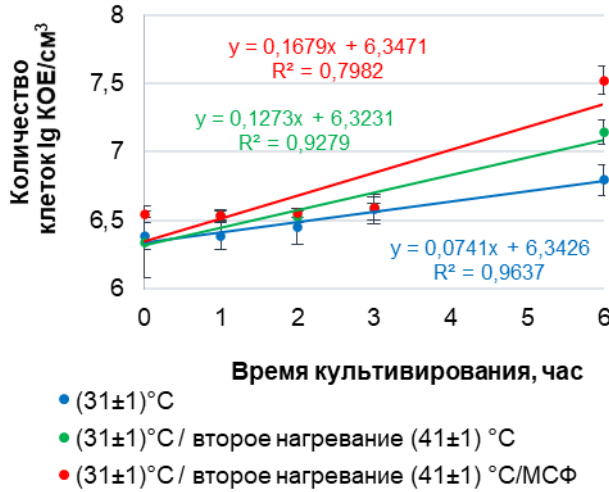


Рисунок 3.29 – Средние значения динамики изменения количества жизнеспособных клеток *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, lg KOE/cm³

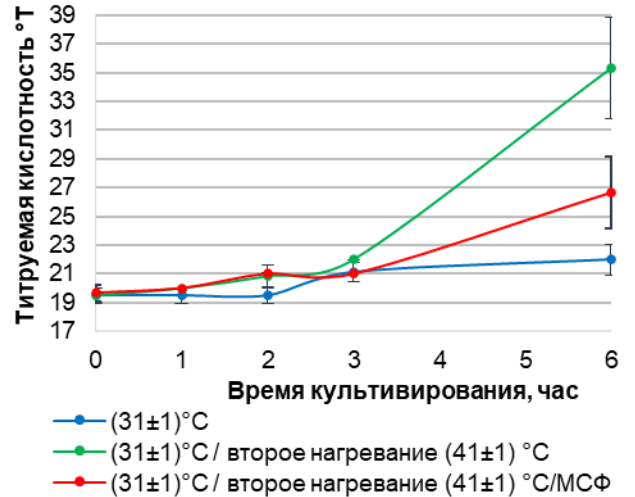


Рисунок 3.30 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, (°T)

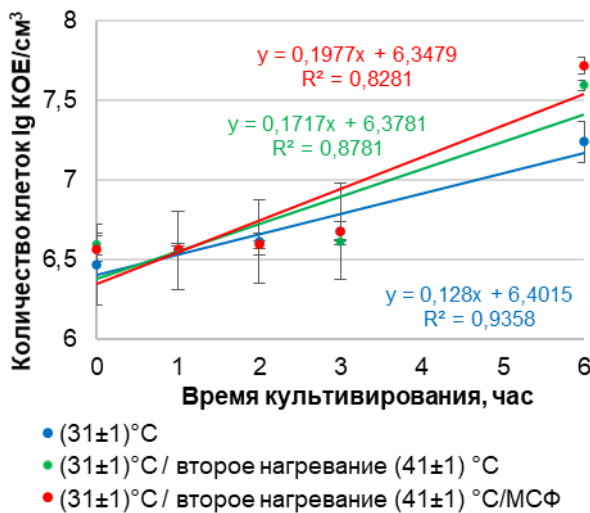


Рисунок 3.31 – Средние значения динамики изменения количества жизнеспособных клеток *Lactobacillus acidophilus*, lg KOE/cm³

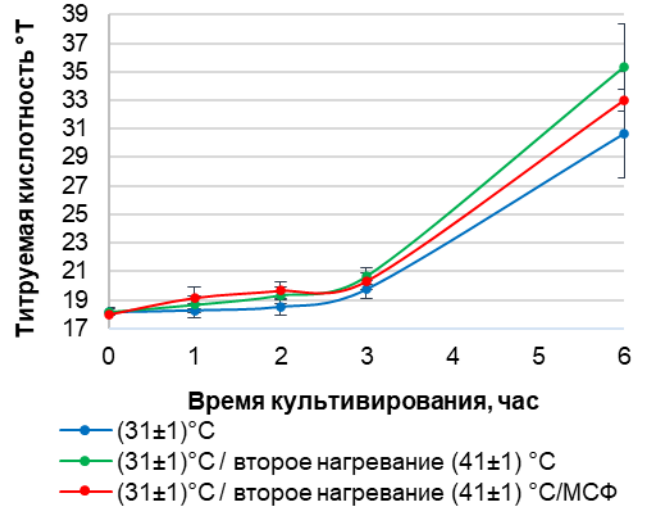


Рисунок 3.32 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности *Lactobacillus acidophilus*, (°T)

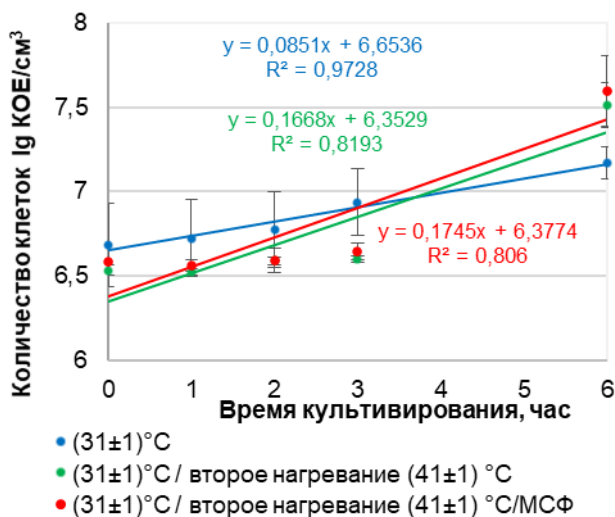


Рисунок 3.33 – Средние значения динамики изменения количества жизнеспособных клеток *Lactobacillus helveticus*, lg КОЕ/см³

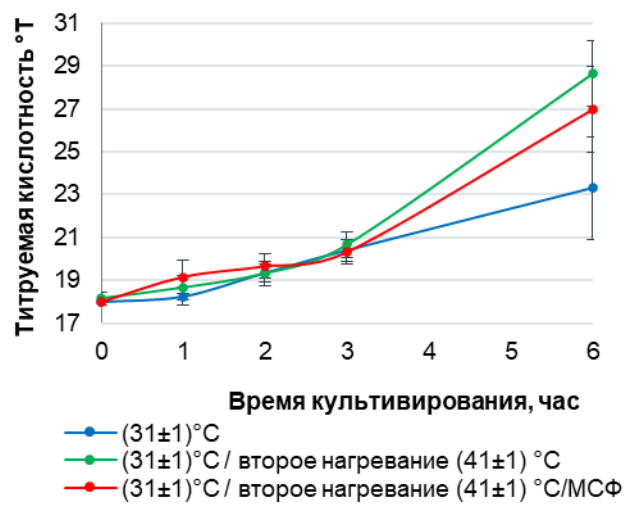


Рисунок 3.34 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности *Lactobacillus helveticus*, (°T)

Анализ данных представленных на рисунках 3.29 – 3.34 показывает, что температура второго нагревания (41±1) °С интенсифицирует процессы развития и кислотообразование штаммов термофильных молочнокислых палочек: *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, увеличивая количество жизнеспособных клеток на (0,5±0,2) порядка и прирост титруемой кислотности на (11±4) °Т, *Lactobacillus acidophilus* на (0,99±0,28) порядка и (5±3) °Т, а *Lactobacillus helveticus* на (0,43±0,18) порядка и (5±1) °Т.

3.1.9 Исследование влияния температуры созревания, соли и их взаимодействие на динамику развития и метаболизм заквасочных микроорганизмов *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus helveticus* в модельной молочной среде

Средние значения количества жизнеспособных клеток штаммов *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus* и кислотообразующей активности при оптимальной температуре их развития (37/40±1) °С, температуре созревания сыров (11±1) °С, а также концентрации NaCl 4 % в молочной среде представлены на рисунках 3.35 – 3.3.40. Средние

значения показателей для штаммов *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* представлены на рисунках 3.35 и 3.36.

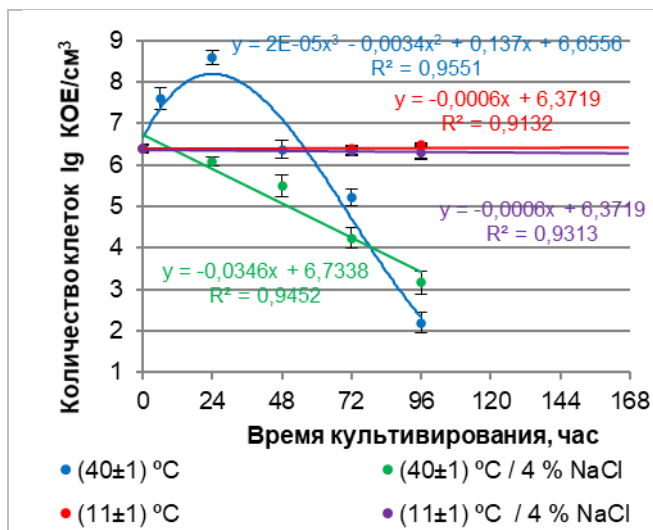


Рисунок 3.35 – Средние значения динамики изменения количества жизнеспособных клеток, lg КОЕ/см³

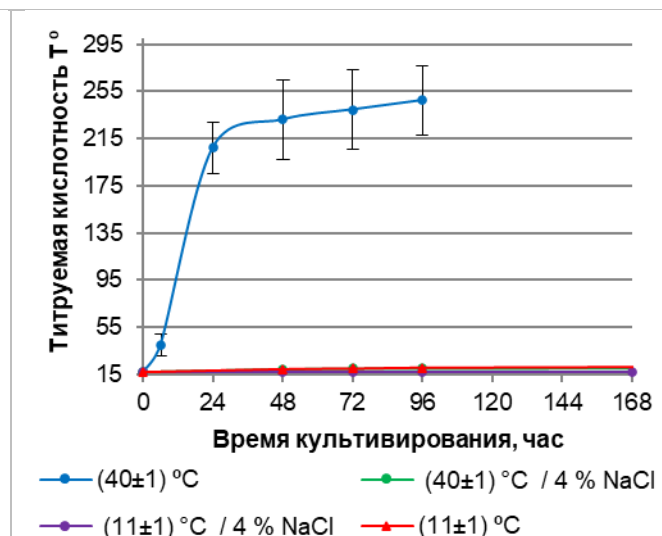


Рисунок 3.36 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности, (°T)

Данные, представленные на рисунках 3.35 – 3.36, показывают, что при оптимальных температурных режимах культивирования (40±1) °C максимальный урожай клеток достигается к 24 часам и составляет $7,0 \times 10^8$ КОЕ/см³, при этом все исследуемые штаммы развиваются идентично, с минимальными отклонениями от средних значений для данного вида. После достижения максимального урожая клеток штаммы *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* переходят к стадии вымирания. К 96 часам наблюдения объем клеточной массы снижается на 6 порядков и составляет 10^2 КОЕ/см³. Следовательно, для *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* особое значение имеет скорость охлаждения молочной среды после достижения максимального количества жизнеспособных клеток. При (11±1) °C штаммы *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* не развиваются, о чем свидетельствует полное отсутствие увеличения количества жизнеспособных клеток относительно исходного уровня. Следовательно, у *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* полностью отсутствует способность к росту и развитию при температурах созревания сыра.

Кислотообразующая активность штаммов *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* при (40±1) °C, в среднем колеблется в интервале (200 – 270) °T. На стадии

экспоненциального роста через (6 – 8) часов с начала культивирования разброс показателей титруемой кислотности между штаммами минимальный, что полностью согласуется с результатами по приросту количества жизнеспособных клеток.

В присутствии 4 % NaCl вымирание клеток начинается после 24 часов культивирования, а к 4 суткам количество жизнеспособных клеток снижается на 5 порядков до 10^3 КОЕ/см³. При сочетании температуры (11 ± 1) °С и 4 % NaCl, процессы развития и метаболизм лактозы отсутствует.

Средние значения показателей развития и метаболизма штаммов *Lactobacillus acidophilus* представлены на рисунках 3.37 и 3.38.

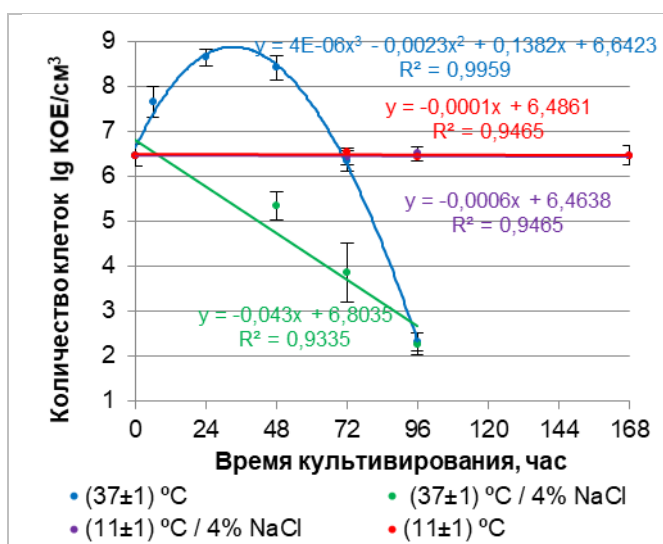


Рисунок 3.37 – Средние значения динамики изменения количества жизнеспособных клеток, lg КОЕ/см³

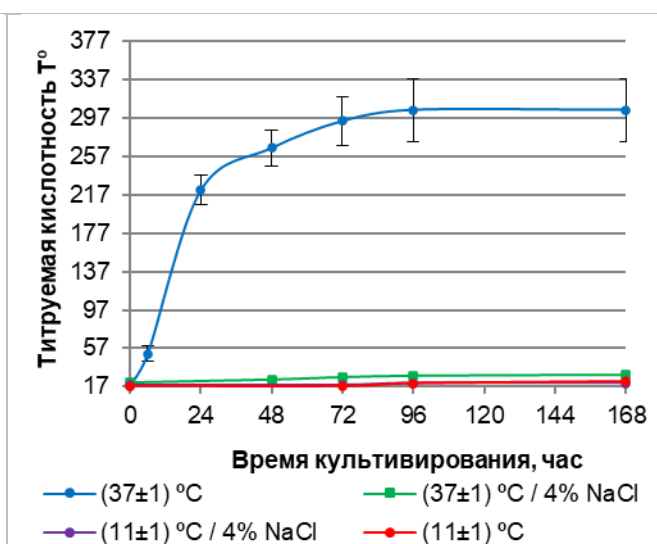


Рисунок 3.38 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности, (°Т)

Анализ полученных результатов свидетельствует, что максимальный урожай клеток *Lactobacillus acidophilus* при оптимальной температуре роста (37 ± 1) °С достигается к 24 часам развития и составляет $9,0 \times 10^8$ КОЕ/см³. Продолжительность стационарной фазы около суток и затем клетки начинают вымирать. Что касается возможности развития культур при (11 ± 1) °С, то все испытанные штаммы *Lactobacillus acidophilus* не способны расти и развиваться, а также сбраживать лактозу, что говорит о критичности данной температуры для осуществления процессов жизнедеятельности, и полностью согласуется с установленными видовыми характеристиками.

Максимальная кислотообразующая активность штаммов *Lactobacillus acidophilus* в оптимальных температурных режимах достигается к 96 часам культивирования и колеблется в интервале (280 – 340) °Т, что несколько превышает общепринятые показатели предельной кислотности для данного вида. Через (6 – 8) часов с начала культивирования разброс показателей титруемой кислотности между штаммами составляет (47±2) °Т. Данные значения крайне важны для прогнозирования результатов процесса сбраживания лактозы штаммами *Lactobacillus acidophilus* за время выработки сыров. В присутствии 4 % NaCl к концу периода наблюдения количество жизнеспособных клеток снижается на 5 порядков до 10² КОЕ/ см³. Процессы кислотообразования отсутствуют.

Средние значения показателей развития и кислотообразования для штаммов *Lactobacillus helveticus* представлены на рисунках 3.39 и 3.40.

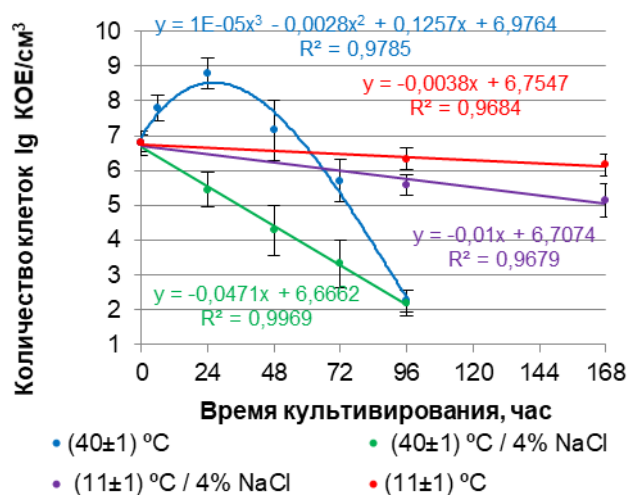


Рисунок 3.39 – Средние значения динамики изменения количества жизнеспособных клеток, lg КОЕ/см³

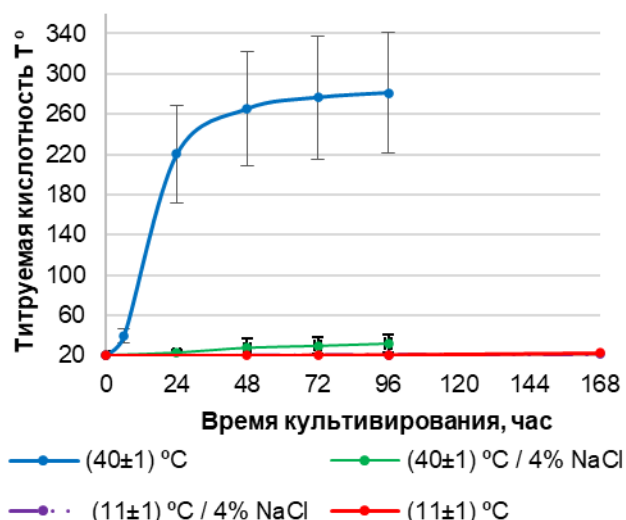


Рисунок 3.40 – Средние значения динамики изменения титруемой кислотности, (°Т)

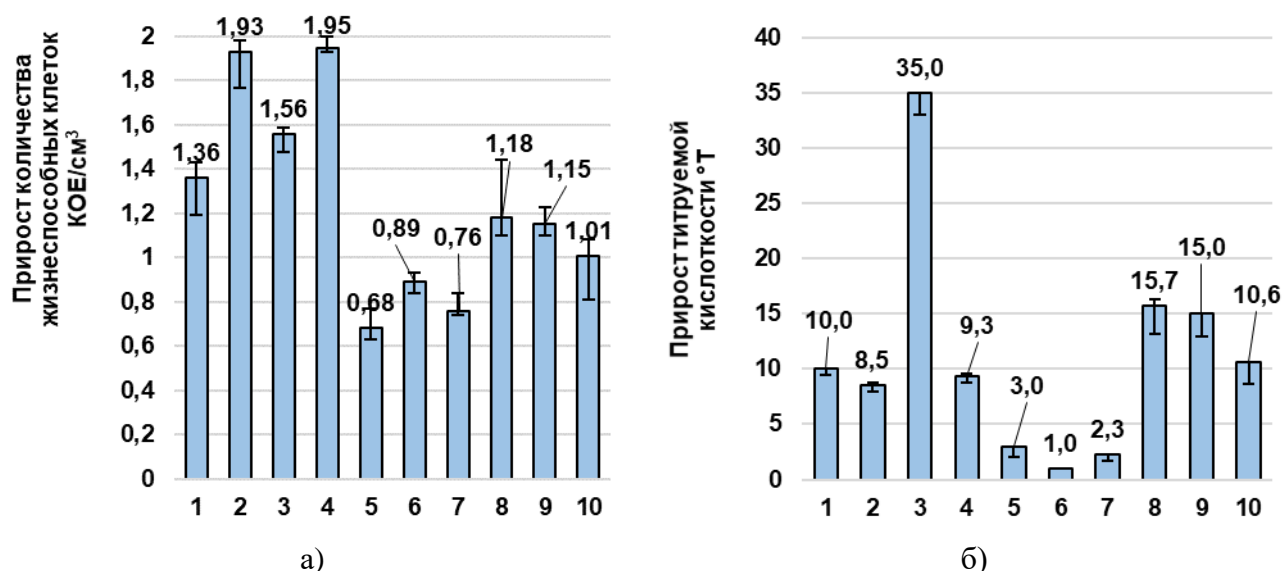
Анализ полученных результатов свидетельствует, что все испытанные штаммы *Lactobacillus helveticus* при оптимальных температурных режимах развиваются идентично. Штаммы *Lactobacillus helveticus* переходят к стадии вымирания, минуя стационарную фазу или сокращая ее до 6 – 8 часов. Различия параметров роста в пределах вида наблюдаются лишь на стадии вымирания. Количество жизнеспособных клеток через 48 часов культивирования варьируется от 3,2×10⁶ КОЕ/см³ до 1,0×10⁸ КОЕ/см³. Отклонения от средних значений для

штаммов данного вида значительно превышают разброс ростовых характеристик штаммов термофильных лактобацилл *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*. Максимальный урожай клеток достигается, к 24 часам развития в молочной среде и колеблется в зависимости от штамма от $4,0 \times 10^8$ КОЕ/см³ до $2,0 \times 10^9$ КОЕ/см³. Для культуры *Lactobacillus helveticus* значимой является скорость охлаждения молочной среды после достижения максимального количества жизнеспособных клеток в популяции. Без охлаждения скорость вымирания клеток значительна и через 72 часа с момента достижения максимального урожая клеток, объем клеточной массы снижается на шесть порядков и составляет лишь 10^2 КОЕ/см³.

Штаммы *Lactobacillus helveticus* различаются по скорости кислотообразования в молочной среде. Кислотообразующая активность штаммов при (40 ± 2) °С, достигает максимума к 72 часам культивирования и колеблется в интервале $(220 - 340)$ °Т. На стадии экспоненциального роста, через $(6 - 8)$ часов с начала культивирования, разброс показателей титруемой кислотности между штаммами минимальный.

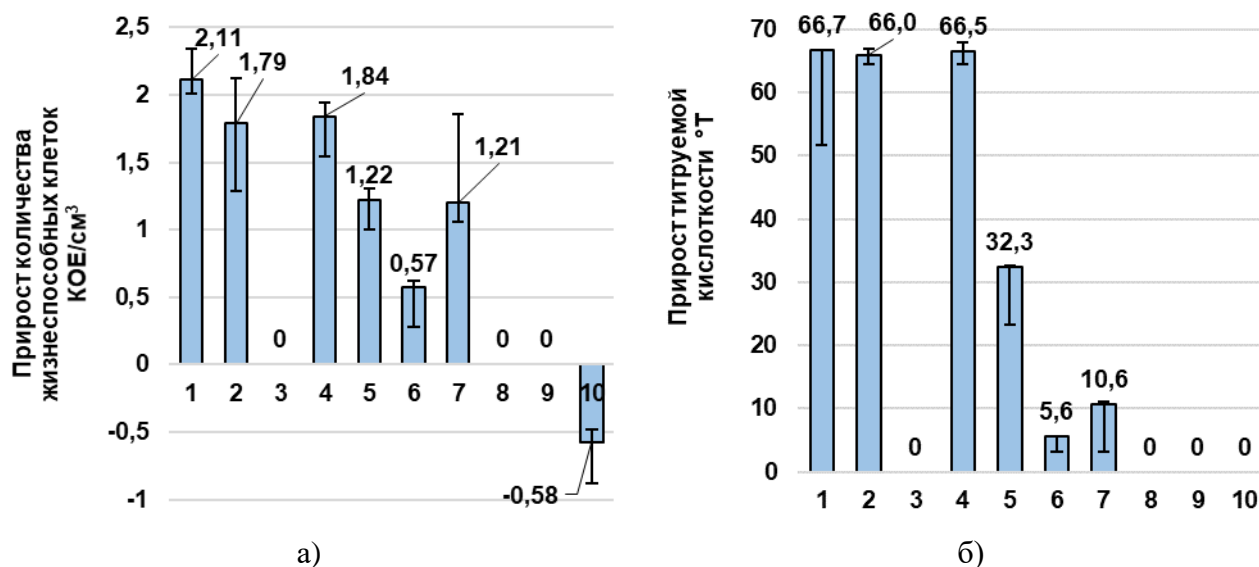
Что касается возможности развития и кислотообразования культур при температурах созревания, то все штаммы термофильных лактобацилл не способны расти и осуществлять процессы гидролиза лактозы, что говорит о критичности температур созревания сыров для их жизнедеятельности.

В присутствии поваренной соли в молочной среде при оптимальной температуре наблюдается вымирание жизнеспособных клеток и отсутствие процессов кислотообразования без какого-либо развития. Количество жизнеспособных клеток к концу периода наблюдений снижается на 5 порядков до 10^2 КОЕ/см³. При одновременном влиянии двух неблагоприятных факторов, таких как низкая температура (11 ± 1) °С и концентрация NaCl 4 %, процессы жизнедеятельности штаммов *Lactobacillus helveticus* отсутствуют.



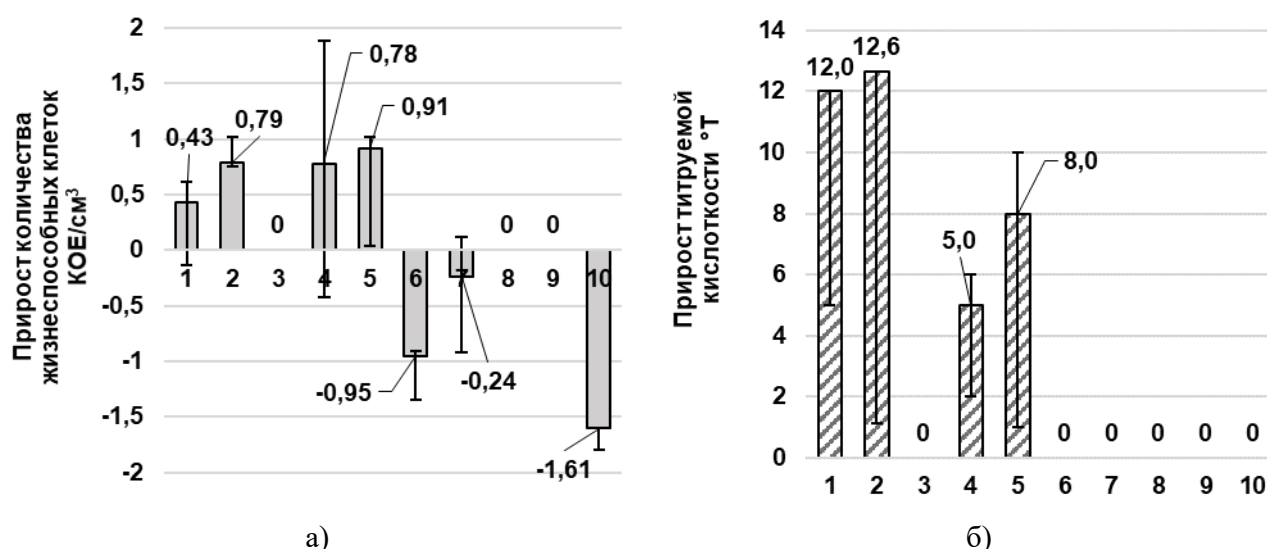
1 - *Lactococcus lactis subsp. lactis*; 2 - *Lactococcus cremoris*; 3 - *Streptococcus thermophilus*;
 4 - *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis*; 5 - *Leuconostoc subsp.*; 6 - *Lactiplantibacillus plantarum*;
 7 - *Lacticaseibacillus casei*; 8 - *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*; 9 - *Lactobacillus acidophilus*;
 10 - *Lactobacillus helveticus*

Рисунок 41 – Сравнительная оценка прироста количества жизнеспособных клеток КОЕ/см³ (а) и титруемой кислотности °Т (б) при развитии различных видов заквасочных культур в модельной молочной среде в условиях выработки сыров (за 6 часов).



1 - *Lactococcus lactis subsp. lactis*; 2 - *Lactococcus cremoris*; 3 - *Streptococcus thermophilus*;
 4 - *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis*; 5 - *Leuconostoc subsp.*; 6 - *Lactiplantibacillus plantarum*;
 7 - *Lacticaseibacillus casei*; 8 - *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*; 9 - *Lactobacillus acidophilus*;
 10 - *Lactobacillus helveticus*

Рисунок 42 – Сравнительная оценка прироста количества жизнеспособных клеток КОЕ/см³ (а) и титруемой кислотности °Т (б) при развитии различных видов заквасочных культур в модельной молочной среде в условиях созревания сыров ((11±1) °С за 7 суток)



1 - *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*; 2 - *Lactococcus cremoris*; 3 - *Streptococcus thermophilus*;
 4 - *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*; 5 - *Leuconostoc* subsp.; 6 - *Lactiplantibacillus plantarum*;
 7 - *Lacticaseibacillus casei*; 8 - *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; 9 - *Lactobacillus acidophilus*;
 10 - *Lactobacillus helveticus*

Рисунок 43 – Сравнительная оценка прироста количества жизнеспособных клеток КОЕ/см³ (а) и титруемой кислотности °Т (б) при развитии различных видов заквасочных культур в модельной молочной среде в условиях созревания сыров ((11±1) °С / 4 % NaCl за 7 суток)

Для установления влияния температуры второго нагревания (41±1) °С, МСФ, NaCl 4 % и температуры созревания на микробиологические показатели исследуемых культур в модельных молочных средах проведен дисперсионный анализ данных, представленный в таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Статистическая значимость влияния температуры второго нагревания (41±1) °С, сычужного фермента, 4 % NaCl и температуры созревания сыров (11±1) °С на количество жизнеспособных клеток

Вид/подвид заквасочной микрофлоры	Фактор							
	Температура второго нагревания (41±1) °С		МСФ		NaCl 4 %		(11±1) °С	
	F _{эмп.}	p	F _{эмп.}	p	F _{эмп.}	p	F _{эмп.}	p
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	87,45	**	28,75	*	34,17	**	36,14	**
<i>Lc. cremoris</i>	156,23	***	18,98	*	129,28	***	169,60	***
<i>Str. thermophilus</i>	143,11	***	1,83	-	84,59	***	326,77	***
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i>	69,20	**	12,27	*	43,96	**	10,43	**
<i>Leuconostoc</i> ssp.	24,12	**	1,03	-	829,47	***	2080,10	***
<i>L. plantarum</i>	34,43	**	2,72	-	37,14	**	25,38	**
<i>L. casei</i>	9,15	*	11,34	*	19,23	*	30,35	**
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	169,36	***	32,20	**	807,09	***	436,36	***
<i>L. acidophilus</i>	17,09	*	11,99	-	112,49	***	1566,30	***
<i>Lbc. helveticus</i>	11,11	*	0,22	-	693,60	***	300,24	***

Примечание: Уровень статистической достоверности оценки влияния фактора: «-» не достоверно (p > 0,05); «*» – p < 0,05; «**» – p < 0,01; «***» – p < 0,001; F критическое для всех наблюдений = 7,7086

В результате проведенной серии экспериментов на модельных молочных средах с высоким уровнем статистической достоверности доказано, что:

- температура второго нагревания (41 ± 1) °С стимулирует развитие и кислотообразующую способность штаммов *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, подавляет *Lactococcus cremoris*, оказывает негативное влияние на культуры *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis*, *Leuconostoc subsp.*, *Lactiplantibacillus plantarum subsp. plantarum*, и в меньшей степени влияет на развитие *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*;

- внесение в молочную среду МСФ не оказывает влияние на развитие и кислотообразующую способность штаммов *Str. thermophilus*, *Leuconostoc*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. helveticus*;

- внесение в молочную среду 4% NaCl оказывает крайне значимое отрицательное влияние на развитие и метаболизм *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*; существенно влияет на *Lactococcus cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis*, *Leuconostoc subsp.*, *Streptococcus thermophilus* и не значительно влияет на мезофильные палочки *Lactiplantibacillus plantarum subsp. plantarum*, *Lacticaseibacillus casei* и *Lactococcus lactis subsp. lactis*;

- температура созревания сыра (11 ± 1) °С крайне отрицательно влияет на *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus thermophilus*, влияет на развитие и метаболизм *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Lactiplantibacillus plantarum subsp. plantarum*, *Lacticaseibacillus casei*, *Leuconostoc subsp.* и менее значимо на *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis*.

- при сочетании факторов риска, таких как температура созревания сыра (11 ± 1) °С и содержание в молочной среде 4% NaCl полностью подавляется развитие *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus* и *Streptococcus thermophilus*; значительно подавляются *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Leuconostoc subsp.*, *Lactococcus*

lactis subsp. lactis, *Lactococcus cremoris* и меньше всего *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis*

Анализируя результаты динамики развития и кислотообразования различных видов молочнокислых заквасочных микроорганизмов в молочных средах, имитирующих температурные и временные условия выработки и созревания сыров с низкой температурой второго нагревания при наличии функционально необходимых ингредиентов, таких как МСФ и NaCl установлено, что особенности развития и кислотообразования культур в разной степени зависят от совокупности температурных и временных условий культивирования и состава молочной среды.

3.2 Исследование процессов развития и метаболизма молочнокислых заквасочных микроорганизмов при выработке сыров

В рамках второго этапа исследований проведены выработки модельных сыров по технологии сыра Голландского с использованием чистых моновидовых культур для оценки возможности их развития и кислотообразования в процессе выработок.

Показатели моновидовых культур, используемых для выработки сыров, представлены в таблице 3.3.

Таблица 3.3 – Показатели моновидовых культур, полученных с использованием штаммов отдельных видов молочнокислых микроорганизмов

Вариант*	Количество мезофильных МКМ, КОЕ/см ³	КМАрФАнМ, КОЕ/см ³	Количество термофильных МКМ КОЕ/см ³ .	Титр. кислот., °Т	Газообразующая активность (см)	Ароматобразующая активность (у. е.)
1	$(3,6\pm 1,2)\times 10^9$	-	-	85±2,5	-	-
2	$(6,8\pm 0,8)\times 10^8$	-	-	81±2,3	-	-
3	-	-	$(7,8\pm 0,6)\times 10^8$	75±3,5	-	-
4	$(1,3\pm 0,7)\times 10^9$	$(1,4\pm 0,5)\times 10^9$	-	92±2,1	0,7±0,5	5
5	$(5,7\pm 0,3)\times 10^8$	$(5,7\pm 0,2)\times 10^8$	-	60±1,5	1,0±0,2	-
6	$(4,3\pm 0,2)\times 10^8$	-	-	39±2,4	-	-
7	$(2,1\pm 0,1)\times 10^9$	-	-	96±1,5	-	-
8	-	-	$(8,0\pm 0,3)\times 10^8$	179±3	-	-
9	-	-	$(5,4\pm 0,3)\times 10^8$	164±4	-	-
10	-	-	$(2,4\pm 0,1)\times 10^8$	179±1	-	-

*1 – *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*; 2 – *Lactococcus cremoris*; 3 – *Streptococcus thermophilus*; 4 – *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*; 5 – *Leuconostoc* subsp.; 6 – *Lactiplantibacillus plantarum*; 7 – *Lacticaseibacillus casei*; 8 – *Lactobacillus helveticus*; 9 – *Lactobacillus acidophilus*; 10 – *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*;

Анализируя показатели моновидовых 16 часовых культур подготовленных на стерильном молоке, представленные в таблице 3.3, следует в первую очередь отметить, что во всех вариантах условия культивирования и дозы внесения обеспечили хорошее развитие микроорганизмов, что подтверждается выходом жизнеспособных клеток на уровне от $(2,4\pm 0,1)\times 10^8$ КОЕ/см³ до $(3,6\pm 1,2)\times 10^9$ КОЕ/см³. Установлено, что в заквасках с моновидовой культурой *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp., все жизнеспособные

клетки способны сбразивать цитраты, однако, газообразующая активность выявлена в заквасках с *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp., а ароматообразующая активность, определяемая по наличию диацетила и ацетоина, только в заквасках с *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*.

Наибольшие показатели кислотообразующей активности, фиксируемые по значениям титруемой кислотности, закономерно выявлены в заквасках, полученных с использованием термофильных палочек, и колеблются от 163 до 180 °Т. В закваске со штаммами *Lactiplantibacillus plantarum* процесс кислотообразования практически не значим, в то время, как штаммы мезофильных лактобацилл *Lactocaseibacillus casei* проявили кислотообразующую активность на уровне мезофильных лактококков и термофильного стрептококка (85,8±8,4) °Т.

Сырое молоко, используемое для производства экспериментальных сыров, проверяли на соответствие общим критериям безопасности, заложенным в ТР ТС 033/2013 и специфическим показателям сыропригодности в соответствии с требованиями СТО ВНИИМС 019-2019 «Молоко коровье сырье. Технические условия» в таблице 3.4

Таблица 3.4 – Показатели безопасности и сыропригодности молока-сырья, используемого для экспериментальных выработок сыра (n = 30)

Показатель	Характеристика показателя для молока
Массовая доля, %:	
Жира	3,97±0,19
Белка	3,32±0,04
СОМО	8,95±0,01
Лактозы	4,76±0,03
Минеральных солей	0,72±0,01
Титруемая кислотность, °Т	17±0,5
Плотность, кг/м ³	1028,52±0,30
Точка замерзания, °С	Минус 0,556±0,05
Количество соматических клеток, тыс. клет/см ³	292,0±4,9
Ингибирующие вещества	Отс.
Сычужная проба, класс	1
Антибиотики	Не выявлены
КМАФАнМ, КОЕ/см ³	(2,4±0,2)×10 ⁴
Количество спор аэробных микроорганизмов, спор/см ³	(6,0±1,0)×10 ⁰
Количество спор ЛСМБ, НВЧ спор/см ³	1,2±0,6
Дрожжи, КОЕ/см ³	(1,5±0,4)×10 ¹
Патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы	Отс.

Результаты анализов молока сырого, представленные в таблице 3.4, свидетельствуют о том, что сырое молоко соответствует как общим критериям безопасности и качества, так и критериям сыропригодности и может быть использовано для выработки сыров.

Таблица 3.5 – Бактериальный пейзаж молочной смеси для выработки сыра до и после внесения МКМ (n = 3)

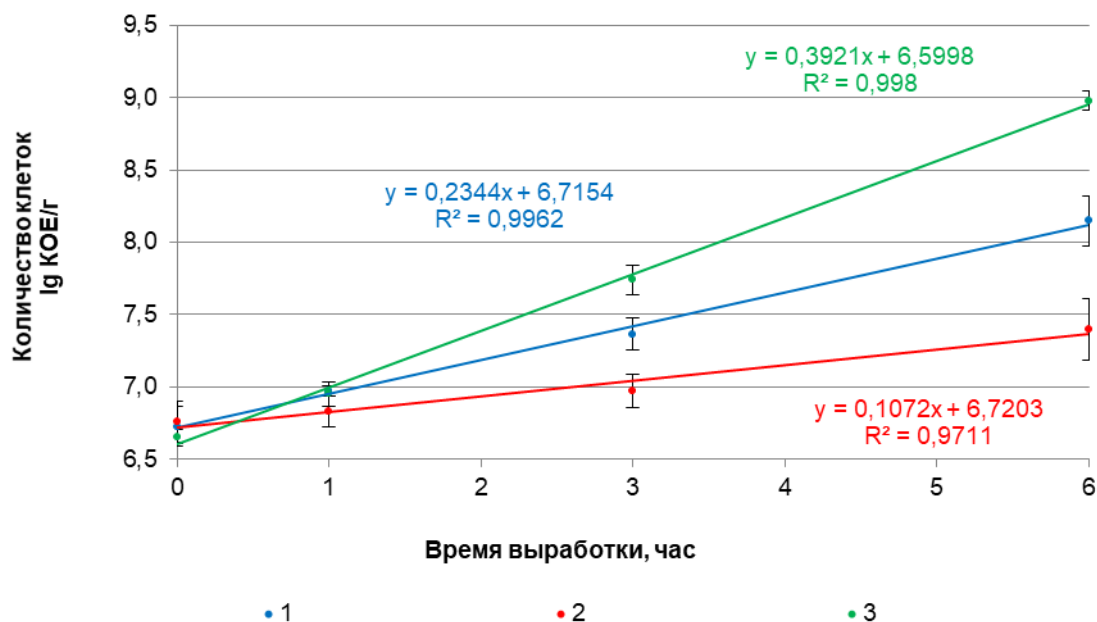
Объект исследования	КМАФАнМ, КОЕ/см ³	Количество мезофильных МКМ, КОЕ/см ³	Количество термофильных МКМ КОЕ/см ³	КМАрФАнМ, КОЕ/см ³
Молочная смесь для выработки сыра до внесения МКМ	$(1,24 \pm 0,32) \times 10^2$		$(4,31 \pm 0,21) \times 10^1$	
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>		$(6,32 \pm 0,95) \times 10^6$	-	-
<i>Lc. cremoris</i>		$(3,61 \pm 1,96) \times 0^6$	-	-
<i>Str. thermophilus</i>		-	$(4,16 \pm 0,85) \times 10^6$	-
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i>		$(6,03 \pm 1,06) \times 10^6$	-	$(6,11 \pm 1,1) \times 10^6$
<i>Leuconostoc</i> subsp		$(2,54 \pm 0,54) \times 10^6$	-	$(2,36 \pm 0,36) \times 0^6$
<i>L. plantarum</i>		$(7,91 \pm 1,44) \times 10^6$	-	$(7,86 \pm 1,67) \times 0^6$
<i>L. casei</i>		$(4,01 \pm 0,22) \times 10^6$	-	$(3,59 \pm 0,44) \times 10^6$
<i>L. helveticus</i>		-	$(7,05 \pm 0,11) \times 10^6$	-
<i>L. acidophilus</i>		-	$(1,17 \pm 0,22) \times 10^6$	-
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>		-	$(9,28 \pm 0,64) \times 10^5$	-

Результаты микробиологических анализов смесей до и после внесения заквасочных культур, представленные в таблице 3.5, показывают, что во всех вариантах выработок сыров с моновидовыми культурами молочные смеси полностью соответствовали показателям безопасности. Выявлено незначительное количество микроорганизмов, в том числе единичные клетки термофильных бактерий, которые не способны оказать значимого влияния на качество сыров при нормальном уровне молочнокислого процесса, обеспечиваемого исходным количеством заквасочных микроорганизмов на уровне 10^6 КОЕ/см³.

3.2.1 Микробиологические и физико-химические процессы во время выработки сыра с основной кислотообразующей моновидовой культурой *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus thermophilus*

Температура и продолжительность второго нагревания оказывают значительное влияние на микробиологические и биохимические процессы в сыре, и, следовательно, на формирование органолептических показателей готового продукта, являясь важнейшим условием получения высококачественного продукта. Цель второго нагревания – усиление отделения сыворотки и создание условий для регулирования процессов развития и метаболизма определенных видов заквасочных микроорганизмов.

Динамика роста и развития заквасочной микрофлоры в процессе выработки сыров представлена на рисунке 3.44, качественный и количественный состав микрофлоры, а также физико-химические показатели в сырах после прессования – в таблице 3.6



1 - *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*; 2 - *Lactococcus cremoris*; 3 - *Streptococcus thermophilus*
Рисунок 3.44 – Динамика роста и развития заквасочной микрофлоры во время выработки сыров

Данные, представленные на рисунке 3.44 и в таблице 3.6, показывают, что количество жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов, внесенных в

смесь для выработки сыров, колебалось в интервале $(8,0 \pm 1,0) \times 10^6$ КОЕ/см³. Процесс выработки суммарно занимает $(6,0 \pm 0,5)$ часов с момента внесения закваски в смесь для выработки сыра до момента посолки. Второе нагревание примерно происходит через 1 час. До момента второго нагревания во всех вариантах сыров наблюдается не значительный прирост жизнеспособных клеток $(0,2 - 0,3)$ порядка. После второго нагревания наиболее интенсивное развитие отмечалось в 3 варианте с *Streptococcus thermophilus* к концу выработки количество клеток достигало 10^9 КОЕ/г. В тоже время температура второго нагревания подавляет развитие *Lactococcus cremoris*, за время выработки количество жизнеспособных клеток увеличивается лишь на 0,5 порядка.

Таблица 3.6 – Физико-химические показатели сыров после пресса

Варианты сыров	Массовая доля влаги, %	Массовая доля лактозы, %	Активная кислотность, ед. pH	Общее количество МКМ, КОЕ/г
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	51,6±0,6 ^a	2,71±0,06 ^a	5,39±0,03 ^a	$(2,4 \pm 1,2) \times 10^{8a}$
<i>Lc. cremoris</i>	51,4±0,3 ^a	3,23±0,04 ^b	5,94±0,04 ^b	$(1,0 \pm 0,7) \times 10^{7b}$
<i>Str. thermophilus</i>	46,8±0,5 ^b	1,42±0,07 ^c	5,16±0,04 ^c	$(9,5 \pm 0,5) \times 10^{8c}$

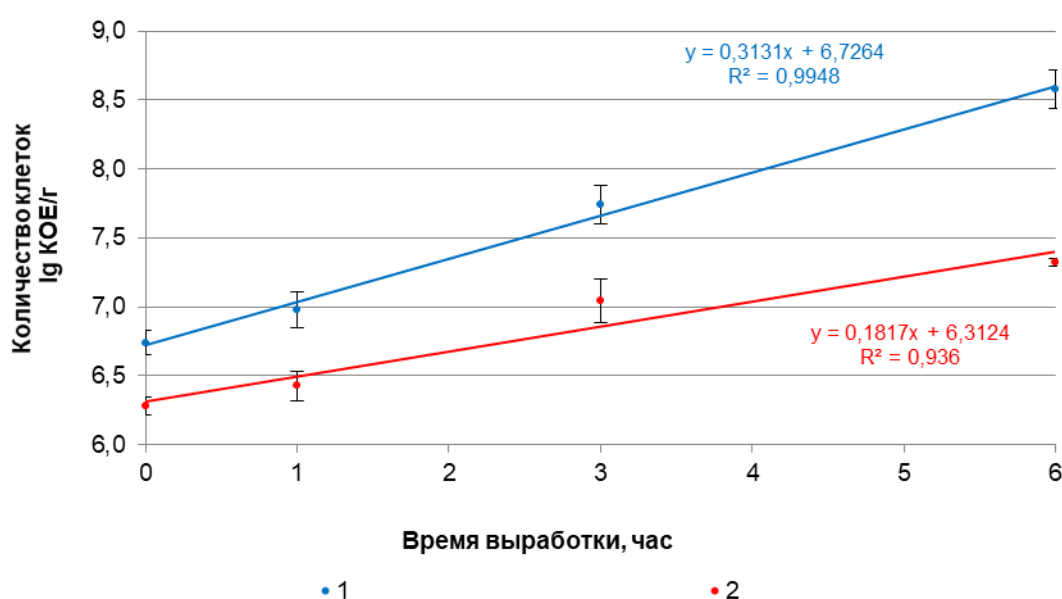
Данные, отмеченные одинаковым индексом внутри одного столбца, не имеют статистически значимых отличий ($p > 0,05$)

Подавление развития *Lactococcus cremoris* температурой второго нагревания $(41 \pm 1)^\circ\text{C}$ приводит к замедлению процессов гликолиза и, как видно из таблицы 3.6, в вариантах сыров после пресса показатели активной кислотности и количество остаточной лактозы выше, чем в вариантах сыров, выработанных с *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Streptococcus thermophilus*.

Вариант сыров, выработанный с использованием *Streptococcus thermophilus* отличался меньшим процентом влаги, низкими значениями активной кислотности и количеством остаточной лактозы, что можно объяснить более интенсивным уровнем молочнокислого процесса. Процент сброженной лактозы в сырах после пресса относительно исходной смеси для выработки составил $(32 \pm 0,7) \%$ для *Lactococcus cremoris* $(43 \pm 0,6) \%$ для *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и $(70 \pm 0,2) \%$ для *Streptococcus thermophilus*.

3.2.2 Микробиологические и физико-химические процессы во время выработки сыров с газоароматообразующей моновидовой культурой *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp.

Динамика роста и развития заквасочной микрофлоры в процессе выработки сыров представлена на рисунке 3.45, качественный и количественный состав микрофлоры, а также физико-химические показатели в сырах после прессования – в таблице 3.7.



1 - *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*; 2 - *Leuconostoc* subsp.

Рисунок 3.45 – Динамика роста и развития заквасочной микрофлоры во время выработки сыров

Данные, представленные на рисунке 3.45 и в таблице 3.7, показывают, что количество жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов, внесенных в смесь для выработки сыра составило $(5,9 \pm 0,1) \times 10^6$ КОЕ/см³ для *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и $(2,5 \pm 0,5) \times 10^6$ КОЕ/см³ для *Leuconostoc* subsp. С момента внесения культур в смесь для выработки, и до момента посолки, температура колебалась от $(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$ до $(41 \pm 1) ^\circ\text{C}$, что совпадает с температурным диапазоном развития для лактококков и лейконостоков. За этот период развитие заквасочной микрофлоры протекало не одинаково и увеличение

клеточной популяции составило 2 порядка для *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и 1 порядок для *Leuconostoc* subsp.

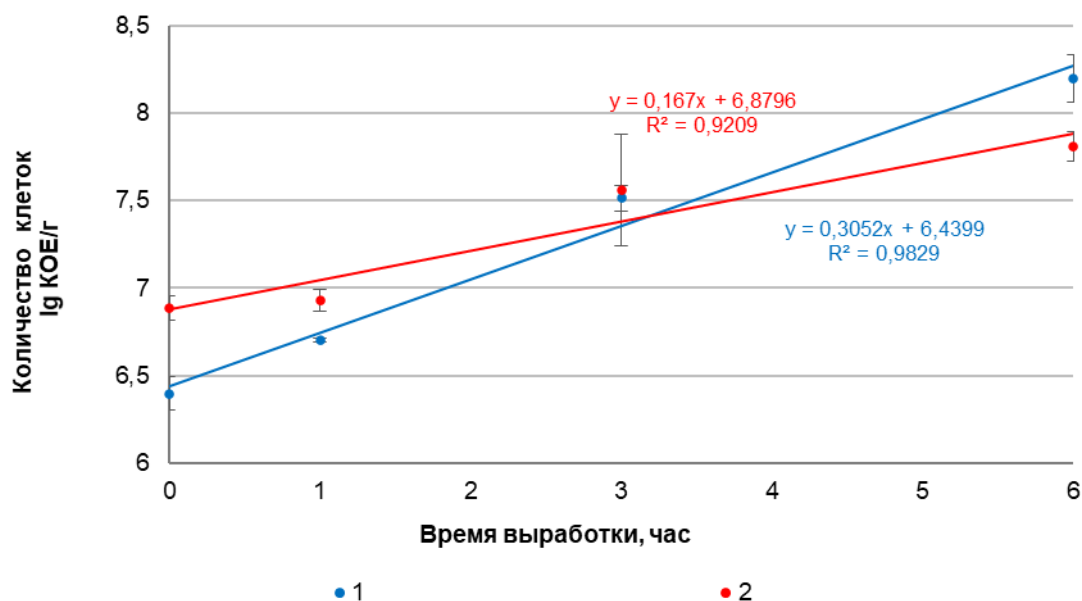
Таблица 3.7 – Физико-химические показатели сыров после пресса

Варианты сыров	Массовая доля влаги, %	Массовая доля лактозы, %	Активная кислотность, ед. рН	Общее количество МКМ, КОЕ/г
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i>	50,0±0,11 ^a	2,48±0,06 ^a	5,38±0,12 ^a	(4,0±0,1)×10 ^{8a}
<i>Leuconostoc</i> subsp.	58,0±0,61 ^b	3,81±0,07 ^b	6,52±0,03 ^b	(2,1±0,3)×10 ^{7b}
Данные, отмеченные одинаковым индексом внутри одного столбца, не имеют статистически значимых отличий (p>0,05)				

Значение активной кислотности, массовой доли лактозы и влаги в исследуемых вариантах сыров после пресса (таблица 3.7) значительно отличались (p<0,05). В сырах 2 варианта с использованием в качестве заквасочной микрофлоры *Leuconostoc* subsp. во время выработки титруемая кислотность не изменялась, что значительно затруднило отделение сыворотки и привело к высокой влажности сыра после пресса (58,0±0,61) %, высокому значению активной кислотности (6,62±0,03) ед. рН и значительному количеству остаточной лактозы (3,81±0,07) %. По физико-химическим показателям вариант сыров 1 с использованием *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* соответствовал показателям в сырах после пресса с *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*.

3.2.3 Микробиологические и физико-химические процессы во время выработки сыра с моновидовой культурой мезофильных лактобацилл видов *Lacticaseibacillus casei* и *Lactiplantibacillus plantarum*

Динамика роста и развития заквасочной микрофлоры в процессе выработки сыров представлена на рисунке 3.46, качественный и количественный состав микрофлоры, а также физико-химические показатели в сырах после прессования – в таблице 3.8.



1 - *Lacticaseibacillus casei*; 2 - *Lactiplantibacillus plantarum*

Рисунок 3.46– Динамика роста и развития заквасочной микрофлоры во время выработки сыров

Данные, представленные на рисунке 3.46, показывают, что количество жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов видов *Lacticaseibacillus casei* и *Lactiplantibacillus plantarum* внесенных в смесь для выработки сыра составило $(4,0 \pm 0,5) \times 10^6$ КОЕ/см³ и $(7,9 \pm 0,1) \times 10^6$ КОЕ/см³, что соответствует требуемому количеству клеток для нормального протекания молочнокислого процесса во время выработки, при использовании в качестве заквасочных микроорганизмов основной кислотообразующей микрофлоры. Количество жизнеспособных клеток *Lacticaseibacillus casei* за 6 часов в процессе выработки увеличилось на 0,9 порядка, а *Lactiplantibacillus plantarum* на 1,8 порядка.

Таблица 3.8 – Физико-химические показатели сыров после пресса

Варианты сыров	Массовая доля влаги, %	Массовая доля лактозы, %	Активная кислотность, ед. рН	Общее количество МКМ, КОЕ/г
<i>L. casei</i>	51,4±0,21 ^a	3,74±0,02 ^a	6,52±0,04 ^a	$(8,3 \pm 0,4) \times 10^{7a}$
<i>L. plantarum</i>	55,0±0,41 ^b	3,75±0,07 ^a	6,65±0,03 ^b	$(2,2 \pm 0,3) \times 10^{8b}$

- Данные, отмеченные одинаковым индексом внутри одного столбца, не имеют статистически значимых отличий (p>0,05)

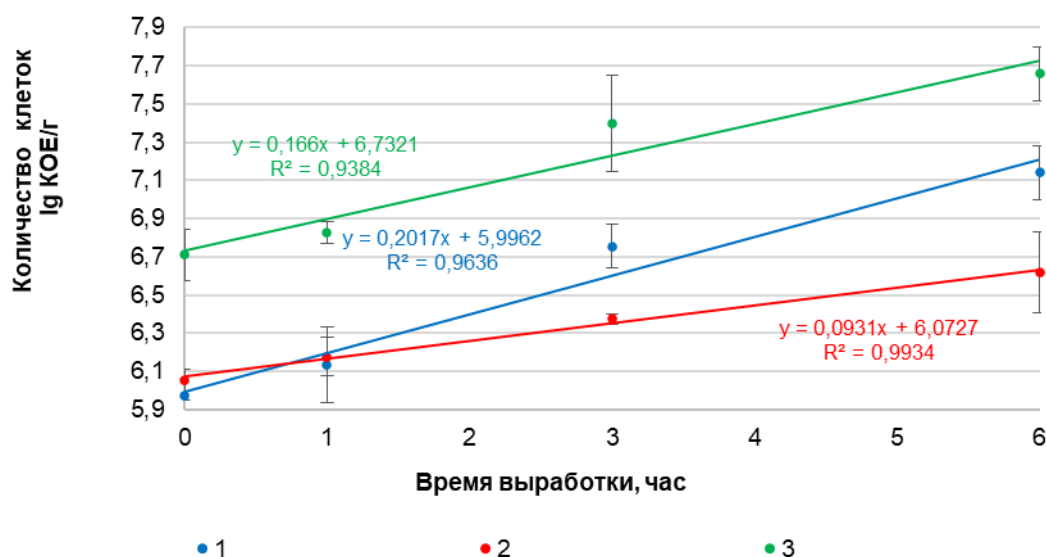
Молочнокислый процесс (таблица 3.8) во время выработки обоих вариантах сыров, с моновидовыми культурами мезофильных палочек, практически

отсутствовал, о чем свидетельствуют высокие значения активной кислотности и значительное количество остаточной лактозы.

3.2.4 Микробиологические и физико-химические процессы во время выработки сыра с моновидовыми культурами термофильных лактобацилл видов *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus helveticus*

Динамика роста и развития заквасочной микрофлоры в процессе выработки сыров представлена на рисунке 3.47, качественный и количественный состав микрофлоры, а также физико-химические показатели в сырах после прессования в таблице 3.9.

Результаты, представленные на рисунке 3.9, показывают, что в процессе выработки количество жизнеспособных клеток, внесенных в смесь, увеличилось от исходного в сырах с *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и *Lactobacillus helveticus* на 1 порядок, а с *Lactobacillus acidophilus* на 0,5 порядка.



1 – *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; 2 – *Lactobacillus acidophilus*;
3 – *Lactobacillus helveticus*

Рисунок 3.47 – Динамика роста и развития заквасочной микрофлоры во время выработки сыров

Развитие молочнокислого процесса (таблица 3.9) во время выработки во всех вариантах шло недостаточно интенсивно, о чем свидетельствует высокое значение активной кислотности и незначительное количество молочной кислоты в сырах после пресса. Наибольшую влажность имели сыры 2 варианта ($50,0 \pm 0,12$) %. В процессе выработки во всех вариантах зерно обрабатывалось плохо.

Таблица 3.9 – Физико-химические показатели сыров после пресса

Вариант сыров	Массовая доля влаги, %	Массовая доля лактозы, %	Глюкоза, %	Галактоза, %	Молочная кислота, %	Активная кислотность, ед. рН	Общее количество МКМ, КОЕ/г
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	$47,8 \pm 0,06^a$	$2,74 \pm 0,02^a$	-	-	$0,17 \pm 0,01^a$	$6,42 \pm 0,01^a$	$(1,3 \pm 0,5) \times 10^{7a}$
<i>L. acidophilus</i>	$50,0 \pm 0,12^b$	$1,91 \pm 0,05^b$	$0,22 \pm 0,05^a$	$0,19 \pm 0,05^a$	$0,09 \pm 0,08^b$	$6,64 \pm 0,02^b$	$(7,2 \pm 0,2) \times 10^{6b}$
<i>L. helveticus</i>	$48,8 \pm 0,05^a$	$0,9 \pm 0,05^c$	$0,51 \pm 0,01^b$	$0,44 \pm 0,03^b$	$0,31 \pm 0,03^c$	$6,34 \pm 0,05^a$	$(8,1 \pm 0,3) \times 10^{7c}$

- Данные, отмеченные одинаковым индексом внутри одного столбца, не имеют статистически значимых отличий ($p > 0,05$)

В сырах после пресса 1 варианта с моновидовой культурой *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* не выявлено наличие глюкозы и галактозы, как промежуточного продукта гликолиза, однако в сырах вариантов 2 и 3 с моновидовыми культурами *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus helveticus* при меньшем количестве остаточной лактозы и незначительном количестве молочной кислоты наблюдалось наличие как глюкозы, так и галактозы (таблица 3.9).

Для оценки возможностей роста и развития заквасочной микрофлоры в условиях выработки сыров, были проведены расчеты кинетических параметров экспоненциального роста в модельных молочных средах и модельных сырах. Результаты представлены в таблице 3.10.

Таблица 3.10 – Кинетические параметры экспоненциального роста культур в условиях выработки в модельной молочных средах и сырах.

Вид МКМ		ν , час ⁻¹	g, час	n, час
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	МС	$0,953 \pm 0,161^a$	$1,328 \pm 0,181^a$	$4,518 \pm 0,392^a$
	п/п	$0,991 \pm 0,175^a$	$1,229 \pm 0,167^a$	$4,946 \pm 0,402^a$
<i>Lc. cremoris</i>	МС	$0,891 \pm 0,134^a$	$1,122 \pm 0,120^a$	$5,348 \pm 0,514^a$
	п/п	$0,223 \pm 0,111^b$	$5,241 \pm 2,321^b$	$1,335 \pm 0,665^b$

Продолжение таблицы 3.10

Вид МКМ		υ, час ⁻¹	g, час	n, час
<i>Str. thermophilus</i>	МС	1,229±0,152 ^a	0,814±0,110 ^a	7,375±0,387 ^a
	п/п	1,314±0,064 ^a	0,762±0,031 ^a	7,884±0,366 ^a
<i>Lc. lacti</i> subsp. <i>diacetylactis</i>	МС	0,976±0,044 ^a	1,026±0,046 ^a	5,857±0,262 ^a
	п/п	1,017±0,112 ^a	0,993±0,119 ^a	6,101±0,732 ^a
<i>Leuconostoc</i> subsp.	МС	0,552±0,039 ^a	1,818±0,125 ^a	3,310±0,233 ^a
	п/п	0,578±0,053 ^a	1,739±0,159 ^a	3,470±0,316 ^a
<i>L. casei</i>	МС	0,463±0,037 ^a	2,168±0,168 ^a	2,779±0,221 ^a
	п/п	0,829±0,069 ^b	1,212±0,097 ^b	4,972±0,415 ^b
<i>L. plantarum</i>	МС	0,476±0,015 ^a	2,102±0,066 ^a	2,857±0,088 ^a
	п/п	1,065±0,055 ^b	0,941±0,050 ^b	6,389±0,333 ^b
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	МС	0,467±0,103 ^a	2,212±0,480 ^a	2,801±0,618 ^a
	п/п	0,777±0,310 ^b	1,409±0,457 ^b	4,662±1,321 ^b
<i>L. acidophilus</i>	МС	0,637±0,530 ^a	1,578±0,130 ^a	3,820±0,317 ^a
	п/п	0,314±0,050 ^b	3,242±0,513 ^b	1,882±0,300 ^b
<i>L. helveticus</i>	МС	0,544±0,151 ^a	1,956±0,642 ^a	3,267±0,907 ^a
	п/п	0,538±0,144 ^a	2,007±0,632 ^a	3,167±0,807 ^a

Данные, отмеченные одинаковым индексом внутри одного столбца для конкретной культуры, не имеют статистически значимых отличий (p>0,05)

Таким образом, в результате данной серии экспериментов установлено, что процесс выработки сыров различным образом влияет на скорость развития и кислотообразование заквасочных культур, что приводит к отличию от хода процессов, наблюдаемых в молочных средах, имитирующих температурные и временные режимы выработки сыров. Так в процессе выработки сыров параметры роста и кислотообразующей активности снижаются для культур *Lactococcus cremoris* и *Lactobacillus acidophilus*, относительно процессов в модельных молочных средах. Для культур *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, процессы развития и метаболизма при выработке сыров идут несколько интенсивнее, чем в молочных средах, для *Lactobacillus casei*, *Lactiplantibacillus plantarum* и *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* процессы развития значительно ускоряются, а для *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Leuconostoc* subsp. и *Lactobacillus helveticus* статистически значимых отличий (p>0,05) не выявлено.

Экспериментально подтверждено, что для обеспечения нормального хода молочнокислого процесса при выработке сыров достаточно использовать культуры

Lactococcus lactis subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Streptococcus thermophilus*. При использовании *Lactococcus cremoris* необходимо снижение температуры второго нагревания. Мезофильные, термофильные палочки и *Leuconostoc* subsp. не обеспечивают достаточного уровня молочнокислого процесса во время выработки сыров. *Lacticaseibacillus casei*, *Lactiplantibacillus plantarum* и *Leuconostoc* subsp. за счет низкой кислотообразующей активности, а *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и *Lactobacillus helveticus* за счет медленного развития.

3.3 Исследование процессов развития и метаболизма молочнокислых заквасочных микроорганизмов при созревании сыров

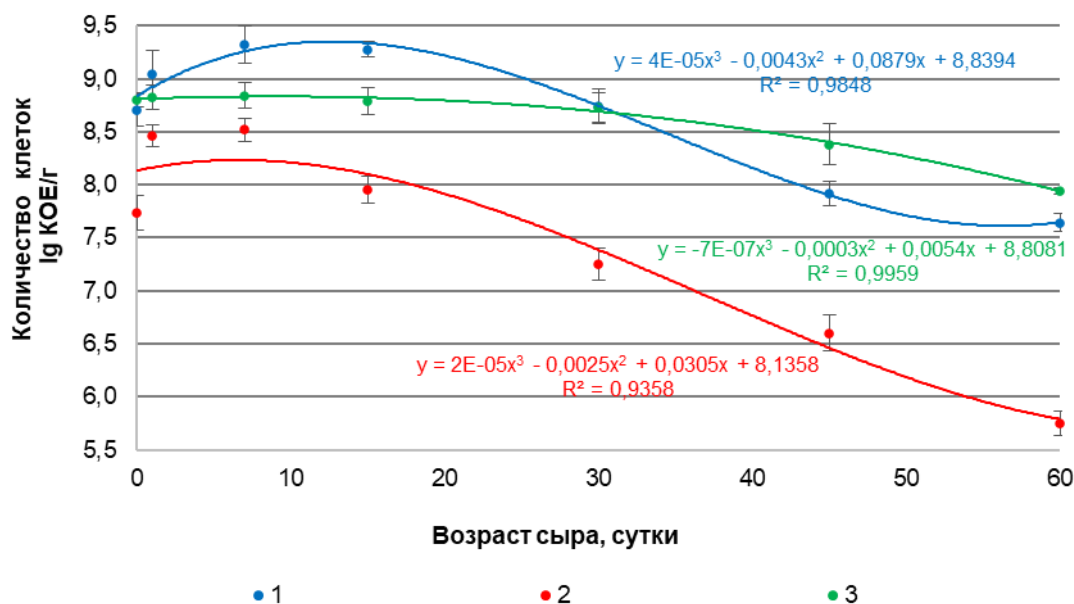
В рамках третьего этапа исследований изучено влияние условий созревания на микробиологические, физико-химические и биохимические показатели полутвердых созревающих сыров, выработанных с использованием комбинации штаммов моновидовых культур.

3.3.1 Микробиологические и физико-химические процессы во время созревания сыров, с моновидовыми культурами *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris* и *Streptococcus thermophilus*

Сыр после прессования и посолки представляет собой резинистую массу без сырного вкуса и рисунка. Характерные органолептические показатели сыры приобретают в результате комплекса взаимосвязанных микробиологических, биохимических и физико-химических процессов, протекающих в сырной массе во время созревания, преимущественно под действием экзоферментов, выделяемых заквасочными микроорганизмами в процессе их развития, как во время выработки, так и во время созревания. Технологические параметры созревания, такие как температура, а также массовая доля влаги и процент поваренной соли в сырах,

определяют возможность развития заквасочных микроорганизмов, направленность и интенсивность микробиологических и биохимических процессов.

На рисунке 3.48 представлены данные динамики изменения количества жизнеспособных клеток основной кислотообразующей заквасочной микрофлоры в процессе созревания сыров, выработанных с моновидовыми культурами *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris* и *Streptococcus thermophilus*.



1 – *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*; 2 – *Lactococcus cremoris*;
3 – *Streptococcus thermophilus*

Рисунок 3.48 – Динамика развития заквасочной микрофлоры в процессе созревания сыров

Первые две точки контроля на кривых, характеризующих динамику развития заквасочных микроорганизмов, соответствуют количеству жизнеспособных клеток в сырах после пресса и через 24 часа после посолки. Максимум количества жизнеспособных клеток (рисунок 3.48) достигается в сырах с *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* на 7 сутки созревания, а с *Lactococcus cremoris* сразу после посолки. В процессе созревания сыров наблюдается вымирание лактококков. Наиболее интенсивно у *Lactococcus cremoris*. В сырах с *Streptococcus thermophilus* не отмечается процессов развития, а вымирание клеток происходит после 30 суток созревания.

Результаты, представленные в таблице 3.11 показывают, что после посолки и охлаждения, уровень остаточной лактозы и накопившейся галактозы в сырах,

выработанных с *Streptococcus thermophilus*, остается неизменным в течение процесса созревания до 30 суток. В сырах, выработанных с различными подвидами лактококков к 7 суткам созревания остаточное количество лактозы остается на уровне (1,0 – 0,5) %.

После 15 суток созревания во всех вариантах сыров с лактококками независимо от подвида остаточное количество лактозы незначительно, а к 30 суткам созревания лактоза не обнаруживается.

Таблица 3.11 – Динамика процесса гликолиза и кислотообразования в сырах в процессе созревания

Варианты сыров	Лактоза, %	Галактоза, %	Молочная кислота, %	Активная кислотность, ед. рН
Сыр после преса				
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	2,71±0,06	-	0,59±0,01	5,39±0,03
<i>Lc. cremoris</i>	3,23±0,04	-	0,21±0,01	5,94±0,04
<i>Str. thermophilus</i>	1,42±0,07	-	1,17±0,03	5,16±0,04
Сыр 7 суток				
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	0,93±0,05	-	1,16±0,02	-
<i>Lc. cremoris</i>	1,01±0,11	-	1,15±0,02	-
<i>Str. thermophilus</i>	0,7±0,05	0,59±0,11	1,21±0,01	-
Сыр 15 суток				
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	0,39±0,04	-	1,91±0,03	4,92±0,012
<i>Lc. cremoris</i>	0,46±0,03	-	1,90±0,14	4,90±0,011
<i>Str. thermophilus</i>	0,71±0,05	0,59±0,13	1,21±0,02	5,15±0,031
Сыр 30 суток				
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	-	-	2,20±0,01	4,92±0,02
<i>Lc. cremoris</i>	-	-	2,19±0,28	4,90±0,01
<i>Str. thermophilus</i>	0,71±0,05	0,61±0,11	1,22±0,05	5,14±0,03

Данные по остаточному количеству лактозы, подтверждаются значениями активной кислотности в сырах кондиционной зрелости (таблица 3.12): значения рН в вариантах сыров с *Streptococcus thermophilus* выше, чем в вариантах сыров с лактококками при более низком содержании влаги. Во всех вариантах сыров кондиционной зрелости значимых различий по показателям содержания жира, общего белка и соли не выявлено.

Таблица 3.12 – Физико-химические показатели сыров кондиционной зрелости

Варианты сыров	Активная кислотность, рН	Массовые доли, %			
		влаги	жира	общего белка	соли
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	4,92±0,02 ^a	43,4±0,1 ^a	46,4±0,11 ^a	28,4±0,26 ^a	2,3±0,1 ^a
<i>Lc. cremoris</i>	4,90±0,01 ^a	42,8±0,09 ^a	46,6±0,23 ^a	28,8±0,15 ^a	2,3±0,3 ^b
<i>Str. thermophilus</i>	5,14±0,03 ^b	40,4±0,41 ^b	46,0±0,18 ^a	28,3±0,29 ^a	2,2±0,1 ^a

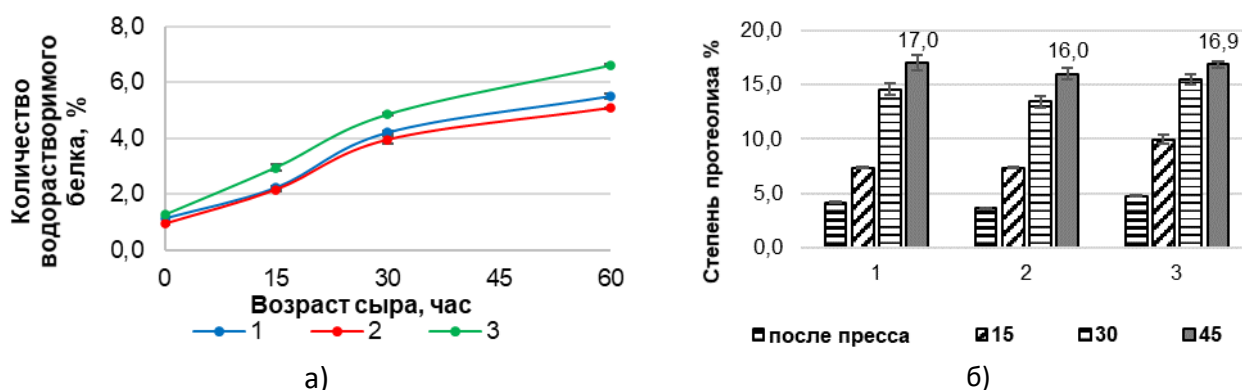
Данные, отмеченные одинаковым индексом внутри одного столбца, не имеют статистически значимых отличий (p>0,05)

Анализируя данные, представленные в таблицах 3.11 и 3.12 можно сделать вывод, что при температуре созревания $(11\pm 1)^\circ\text{C}$, в сырах, выработанных на лактококках после 15 суток созревания лактоза сброжена, при тех же условиях в сырах с *Streptococcus thermophilus* наблюдается отсутствие молочнокислого процесса после посолки сыров.

Протеолитическую активность используемых заквасочных культур, оценивали по степени протеолиза в созревающих сырах, которую рассчитывали, как отношение массовой доли водорастворимого белка к массовой доле общего белка.

На рисунке 3.49 представлены данные количества водорастворимого белка (а) и динамика изменения степени протеолиза (б) в сырах кондиционной зрелости

После снижения температуры в головках до температуры созревания количество водорастворимого белка (рисунок 3.49 - а) в сырах 1 и 2 вариантов колеблется в интервале от $(4,03\pm 0,05)\%$ до $(4,59\pm 0,04)\%$, в сырах варианта 3 прирост водорастворимого белка составлял $(5,35\pm 0,06)\%$.



1 – *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*; 2 – *Lactococcus cremoris*; 3 – *Streptococcus thermophilus*
Рисунок 3.49 – Динамика изменения водорастворимого белка (а) и степени протеолиза (б) в процессе созревания сыров

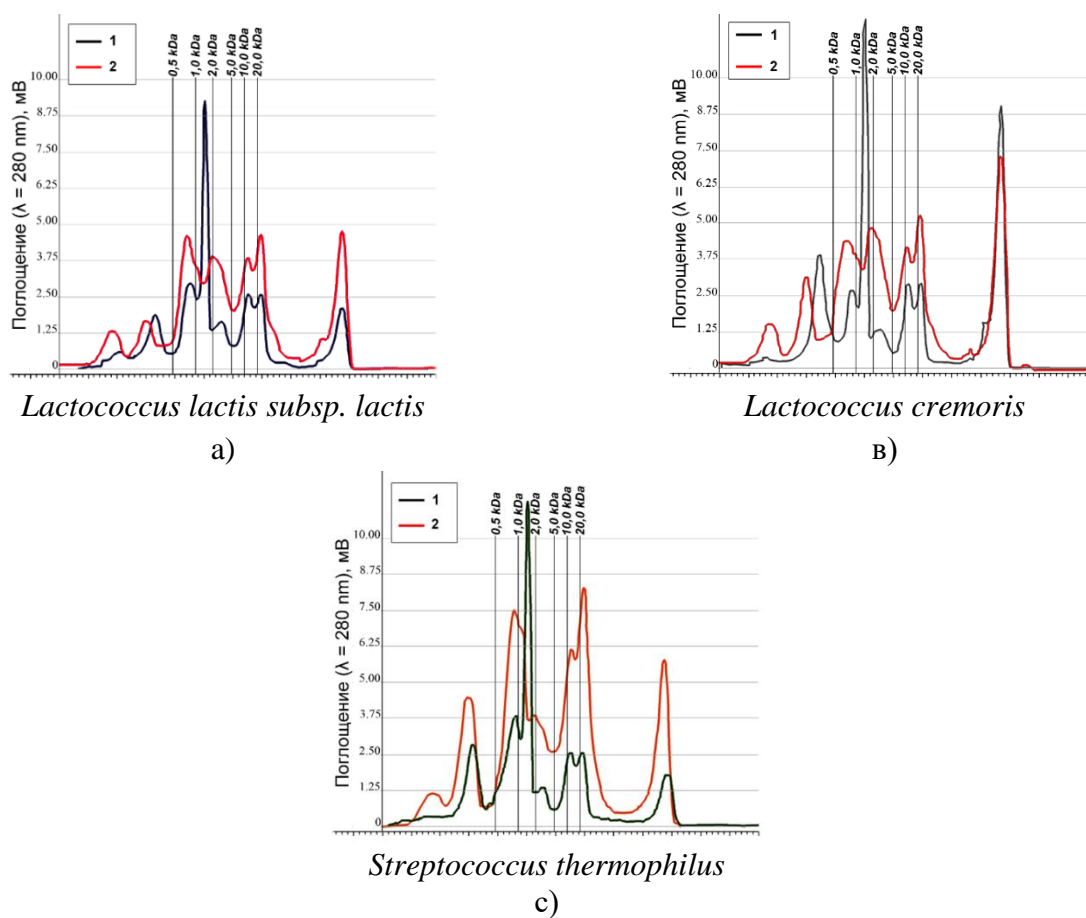
При созревании сыров протеолитические процессы крайне разнообразны и многостадийны, поэтому в сырах одновременно выявляются продукты ферментативного распада белков, как частицы почти не измененного параказеина, так и продукты полного распада белка до аминокислот и аминов.

Анализ результатов степени протеолиза показывает, что во всех вариантах сыров во время созревания отмечено увеличение степени протеолиза (рисунок 3.49 - б) и количества растворимого белка (рисунок 3.49 - а). Наибольший

показатель водорастворимого белка выявлен в сырах 3 варианта с моновидовой культурой *Streptococcus thermophilus*, в сравнении с вариантами сыров, выработанными с лактококками. Хотя штаммы *Streptococcus thermophilus* не обладают значительной протеолитической активностью.

Оценка степени протеолиза недостаточно отражает степень протеолитического влияния на белковую матрицу сыра, поэтому для получения более полной картины определяли пептидный профиль сыров.

Хроматограмма молекулярно-массового распределения продуктов гидролиза белка в сырах после пресса и кондиционной зрелости представлена на рисунке 3.50, показывает, что в сырах с *Streptococcus thermophilus* (вариант 3) содержится большое количество продуктов протеолиза с молекулярной массой менее 0,5 кДа. Образование большого количества пептидов может стать причиной потери связности сырной массы, что внешне проявляется в пластификации консистенции (излишне пластичная, вязкая, мажущаяся консистенция).



1 – сыр после пресса; 2 – сыр кондиционной зрелости

Рисунок 3.50 – Диаграмма молекулярно-массового распределения продуктов протеолиза в сырах после пресса и кондиционной зрелости

В сырах, выработанных с использованием *Lactococcus lactis subsp. lactis* и *Lactococcus cremoris* (варианты 1 и 2) количество прогидролизованного белка значительно выше относительно сыров после пресса, а также в сырах кондиционной зрелости выявляется тенденция более значительного накопления аминокислот и мелких пептидов.

Содержание летучих вкусоароматических веществ определяли в паровой фазе сыров после пресса и в возрасте кондиционной зрелости. Общее содержание летучих вкусо-ароматических веществ в сырах кондиционной зрелости представлены в таблице 3.13.

Анализируя результаты таблицы 3.13 можно сделать вывод, что в сырах после пресса не зависимо от интенсивности развития и уровня молочнокислого процесса значимых различий по общему содержанию вкусоароматических веществ не было выявлено.

Таблица 3.13 – Содержание ароматобразующих веществ в паровой фазе сыров после пресса и кондиционной зрелости

Варианты сыров	Общее содержание ароматообразующих веществ, нА·с	
	Сыр после пресса	Сыр кондиционной зрелости
<i>Lc. lactis subsp. lactis</i>	0,83±0,07	1,48±0,05
<i>Lc. cremoris</i>	0,81±0,06	1,01±0,05
<i>Str. thermophilus</i>	0,74±0,19	0,77±0,07

В сырах кодиционной зрелости наибольшее количество ароматообразующих веществ содержит паровая фаза сыров, выработанных с использованием *Lactococcus lactis subsp. lactis* и не отмечено накопления в сырах с *Streptococcus thermophilus*, что можно объяснить отсутствием развития данного микроорганизма в процессе созревания.

Таблица 3.14 – Качественный состав вкусоароматических вещества в сырах кондиционной зрелости

Наименование ЛВАВ	Варианты сыров		
	<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	<i>Lactococcus cremoris</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
Альдегиды, % от общего количества ВАВ:			
Этаналь	88,04±0,04	78,76±0,01	-
Пентаналь	-	-	0,11±0,02
Гептаналь	0,03±0,02	0,06±0,01	0,08±0,01
Бутаналь	-	-	8,12±0,11

Продолжение таблицы 3.14

Наименование ЛВАВ	Варианты сыров		
	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Lactococcus cremoris</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
Альдегиды, % от общего количества ВАВ:			
Бутелаль-2	-	-	9,67±0,33
Изо-гексаналь	-	1,08±0,01	0,04±0,02
Изо-пентаналь	4,64±0,01	7,08±0,02	3,25±0,07
Кетоны, % от общего количества ВАВ:			
Гексанон-2	0,02±0,01	0,02±0,01	-
Спирты, % от общего количества ВАВ:			
Пропанол-1	-	-	73,23±0,34
Кислоты, % от общего количества ВАВ:			
Уксусная кислота	4,44±0,19	8,47±0,28	-

По результатам анализа качественного и количественного состава летучих вкусоароматических веществ в паровой фазе сыров кондиционной зрелости, представленного в таблице 3.14 установлено, что во всех исследованных сырах летучие вкусоароматические вещества представлены, главным образом, альдегидами (бутеналь-2, гептаналь, этаналь,), кетонами (бутанон-2, гексанон-2,) и в сырах с лактококками уксусной кислотой. В вариантах сыров с *Streptococcus thermophilus* кроме вышеперечисленных альдегидов и кетонов был идентифицирован бутаналь в количестве (8,12±0,11) %.

С целью установления влияния вида закваски, времени созревания на физико-химические и микробиологические показатели в сырах был проведен дисперсионный анализ данных. Результаты дисперсионного анализа, представлены в таблице 3.15.

Таблица 3.15 – Статистическая значимость влияния вида закваски, времени созревания и их совокупное влияние на физико-химические и микробиологические показатели в сырах

Фактор	р	MS	F _{эмп.}	F _{кр}
Количество МКБ				
Время созревания сыра	***	3,31	160,2	2,32
Вид заквасочной микрофлоры	***	10,76	520,9	3,31
Вид МФ / Время	***	0,41	19,8	1,99
Массовая доля лактозы				
Срок созревания сыра	***	8,72	956,4	3,0
Вид заквасочной микрофлоры	***	0,21	23,4	3,4
Вид МФ / Время	***	1,14	125,7	2,5
Активная кислотность				
Срок созревания сыра	***	0,784	1008,5	3,5
Вид заквасочной микрофлоры	***	0,058	74,99	3,5
Вид МФ / Время	***	0,239	307,30	2,9

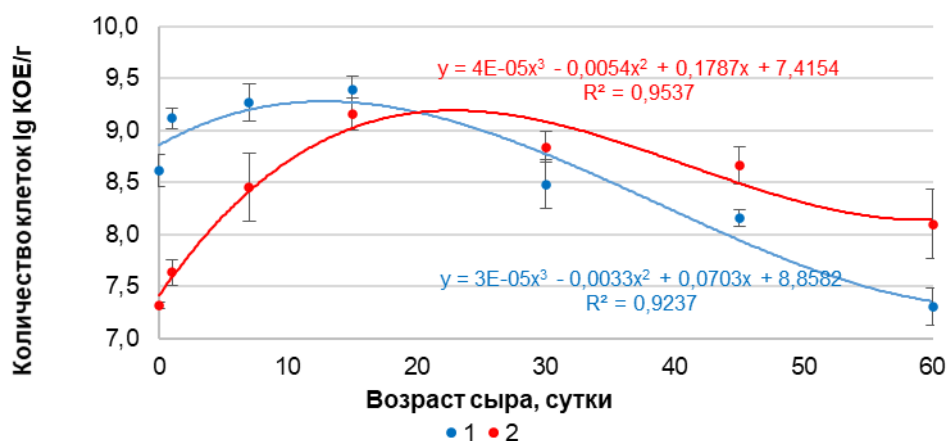
Продолжение таблицы 3.15

Фактор	p	MS	F _{эмп.}	F _{кр}
Массовая доля влаги				
Время созревания сыра	***	256,13	703,9	4,74
Вид заквасочной микрофлоры	***	31,2	85,74	3,88
Вид МФ / Время	***	2,59	7,12	3,88
Степень протеолиза				
Время созревания сыра	***	423,42	1473,2	3,0
Вид заквасочной микрофлоры	***	27,63	96,15	3,4
Вид МФ / Время	***	2,23	7,77	2,5
<i>Примечание:</i> Полужирным шрифтом выделено значение наиболее значимого фактора Уровень статистической достоверности оценки влияния фактора (p-значение): «-» статистически не достоверно (p > 0,05) «*» – p < 0,05; «**» – p < 0,01; «***» – p < 0,001				

Данные дисперсионного анализа, представленные в таблице 3.15 показывают, что, массовая доля лактозы, активная кислотность, массовая доля влаги и степень протеолиза в большей степени зависят от времени созревания сыра, а количество молочнокислых микроорганизмов от вида используемой заквасочной микрофлоры.

3.3.2 Микробиологические и физико-химические процессы во время созревания сыров, выработанных с моновидами газо- и ароматообразующими культурами *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp.

На рисунке 3.51 представлены данные динамики изменения количества жизнеспособных клеток газо-и ароматообразующей заквасочной микрофлоры в процессе созревания сыров.



1 – *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*; 2 – *Leuconostoc* subsp.

Рисунок 3.51 – Динамика развития заквасочной микрофлоры в процессе созревания сыров

В процессе созревания сыров (рисунок 3.51) с максимум развития достигается на 15 сутки, и составляет $(4,2 \pm 0,1) \times 10^9$ КОЕ/г в сырах с *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и $(1,5 \pm 0,1) \times 10^9$ КОЕ/г в сырах с *Leuconostoc* subsp. До 15 суток созревания увеличение клеток в сырах с моновидовой культурой *Leuconostoc* subsp. протекает интенсивнее, чем в сырах с *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*. К 20 суткам во всех сырах отмечается снижение количества жизнеспособных клеток и к 60 суткам созревания клеточная популяция уменьшается на 1.5 порядка.

Таблица 3.16 – Динамика процесса гликолиза и кислотообразования в сырах в процессе созревания

Варианты сыров	Лактоза, %	Галактоза, %	Молочная кислота, %	Активная кислотность, ед. рН
Сыр после преса				
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i>	2,48±0,05	-	0,61±0,11	5,38±0,12
<i>Leuconostoc</i> subsp.	2,82±0,07	-	-	6,52±0,03
Сыр 7 суток				
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i>	0,91±0,01	-	1,22±0,02	-
<i>Leuconostoc</i> subsp.	1,81±0,03	-	1,13±0,05	-
Сыр 15 суток				
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i>	0,34±0,05	-	1,91±0,03	4,95±0,02
<i>Leuconostoc</i> subsp.	0,40±0,05	-	1,55±0,14 ^c	5,11±0,11
Сыр 30 суток				
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i>	-	-	2,21±0,01	4,71±0,05
<i>Leuconostoc</i> subsp.	-	-	2,20±0,21	4,73±0,04

Оценивая показатели остаточного количества лактозы (таблица 3.16) в процессе созревания сыров с *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp., можно сделать вывод, что молочнокислый процесс во время выработки и на первых этапах созревания идет интенсивнее в варианте сыров с *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*. На 7 сутки созревания остаточное количество лактозы в сырах, остается на уровне $(0,91 \pm 0,01)$ %, тогда как в варианте 2 с *Leuconostoc* subsp. составляет $(1,81 \pm 0,03)$ %. К 15 суткам остаточное количество лактозы во всех вариантах составляет $(0,3 - 0,4)$ %.

Основные физико-химические показатели исследуемых вариантов сыров кондиционной зрелости, представлены в таблице 3.17.

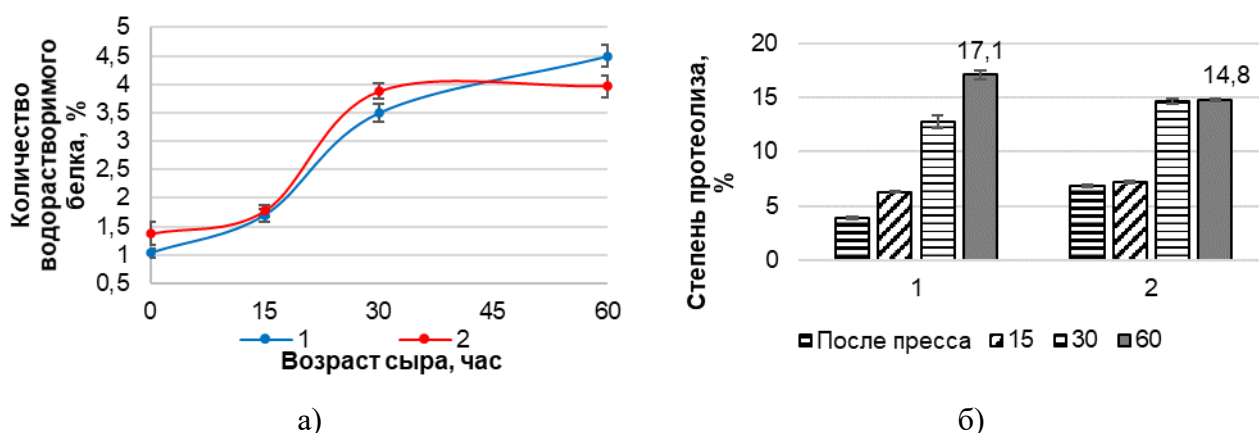
Анализ данных, представленных в таблице 3.17 показывает, что температура созревания (11 ± 1) °С, в равной степени влияет на изменение физико-химических показателей сыров с *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp.

Таблица 3.17 – Физико-химические показатели сыров кондиционной зрелости

Варианты сыров	Активная кислотность, рН	Массовые доли, %			
		влага	жир	общий белк	соль
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i>	4,71±0,05 ^a	45,4±0,02 ^a	44,9±0,11 ^a	26,4±0,26 ^a	2,3±0,1 ^a
<i>Leuconostoc</i> subsp.	4,73±0,04 ^a	43,8±0,03 ^a	45,3±0,23 ^a	26,9±0,04 ^a	2,3±0,3 ^a

Данные, отмеченные одинаковым индексом внутри одного столбца, не имеют статистически значимых отличий ($p > 0,05$)

На рисунке 3.52 (а) представлены данные изменения количества водорастворимого белка и динамика изменения степени протеолиза (б) в сырах в кондиционной зрелости.



1 - *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*; 2 - *Leuconostoc* subsp.

Рисунок 3.52 – Динамика изменения водорастворимого белка (а) и степени протеолиза (б) в процессе созревания сыров

Сравнительный анализ результатов прироста количества водорастворимого белка и степени протеолиза в сырах представленный на рисунке 3.52 показывает, что процессы протеолиза, под действием ферментов, продуцируемых *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* при их развитии в сыре, идут активнее к концу созревания, прирост водорастворимого белка (рисунок 3.52 (а)) составил ($3,47\pm 0,14$) %, тогда как в сыре с *Leuconostoc* subsp. только ($2,59\pm 0,11$) %.

Степень протеолиза (рисунок 3.52 (б)) в сырах с *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* изменяется на протяжении всего срока

созревания и к концу достигает $(17,1 \pm 0,05)$ %, тогда как в сырах с *Leuconostoc* subsp. процессы протеолиза активизируются после 15 суток созревания, когда популяция достигает максимума развития и переходит в стадию вымирания. Степень протеолиза в кондиционной зрелости сыров с *Leuconostoc* subsp. составила $(14,8 \pm 0,15)$ %.

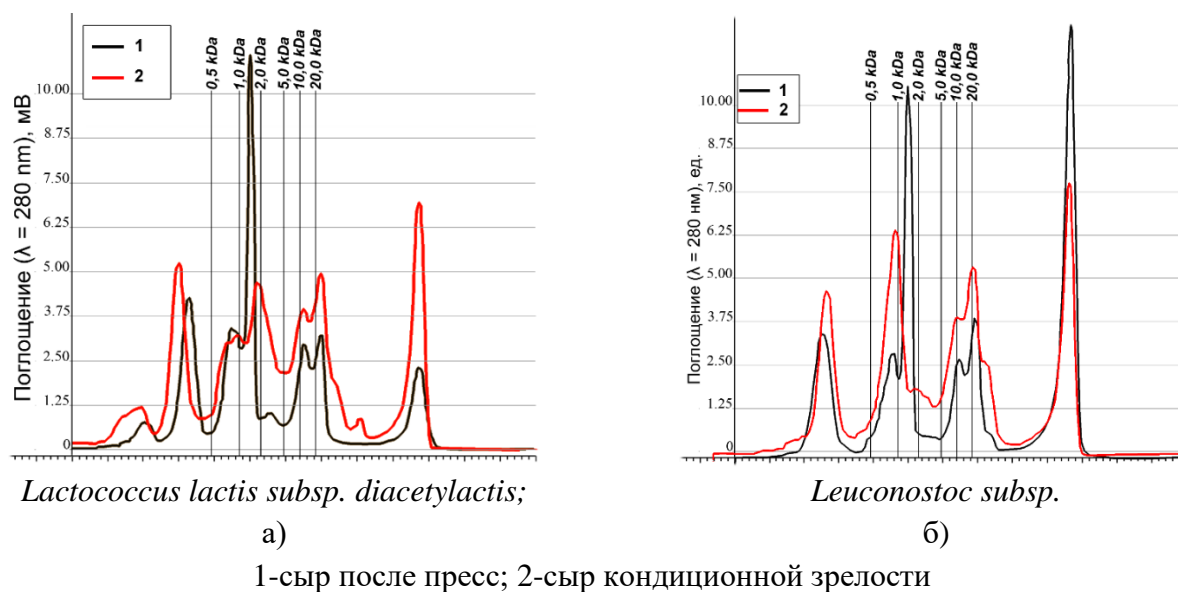


Рисунок 3.53 – Диаграмма молекулярно-массового распределения продуктов протеолиза в сырах после пресса и кондиционной зрелости

Хроматограмма молекулярно-массового распределения продуктов протеолиза в сырах после пресса и кондиционной зрелости представленная на рисунке 3.53, показывает, что во всех вариантах сыров кондиционной зрелости как с *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, так и с *Leuconostoc* subsp. выявляется тенденция значительного накопления аминокислот и мелких пептидов.

Содержание летучих вкусоароматических веществ определяли в паровой фазе сыров после пресса в сырах кондиционной зрелости.

По результатам анализа сыров газо–хроматографическим методом (таблица 3.18), общее содержание вкусоароматических веществ в сыре кондиционной зрелости относительно сыра после прессования увеличилось в сырах с *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* на 0,8 нА·с, а в сырах с *Leuconostoc* subsp. на 0,72 нА·с.

Таблица 3.18 – Содержание ароматобразующих веществ в паровой фазе сыров после пресса и кондиционной зрелости

Варианты сыров	Общее содержание ароматообразующих веществ, нА·с	
	Сыр после пресса	Сыр кондиционной зрелости
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i>	0,96±0,07	1,76±0,05
<i>Leuconostoc</i> subsp.	0,81±0,04	1,53±0,06

Таблица 3.19 – Качественный и количественный состав вкусоароматических вещества экспериментальных сыров возрасте кондиционной зрелости

Наименование ЛВАВ	Варианты сыров	
	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i>	<i>Leuconostoc</i> subsp.
Альдегиды, % от общего количества ВАВ		
Этаналь	79,80±0,02	-
Гептаналь	0,13±0,01	0,006±0,014
Бутаналь	0,01±0,01	0,41±0,02
Бутелаль-2	-	1,63±0,01
Изо-гексаналь	-	1,08±0,01
Изо-пентаналь	7,73±0,11	7,08± 0,02
Спирты, % от общего количества ВАВ		
Этанол	-	97,8±0,02
Кислоты, % от общего количества ВАВ		
Уксусная кислота	8,41±0,02	-

Качественный состав вкусоароматических веществ (таблица 3.19) всех вариантов сыров представлен, главным образом, альдегидами, а в сырах с *Leuconostoc subsp.* еще и спиртом этанолом. В наибольшем количестве в сырах с *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* содержится этаналь (79,8±0,02) %, изо-пентаналь (7,73±0,011) % и уксусной кислоты (8,41±0,02) %, а в сырах с *Leuconostoc subsp.* выявлены: этанол (97,8±0,02) %, бутеналь-2 (1,63±0,01) %, изо-гексаналь (1,08±0,013) % и изо-пентаналь (7,08± 0,02) %

С целью установления влияния вида закваски, времени созревания на физико-химические и микробиологические показатели в сырах был проведен дисперсионный анализ данных. Результаты дисперсионного анализа, представлены в таблице 3.20.

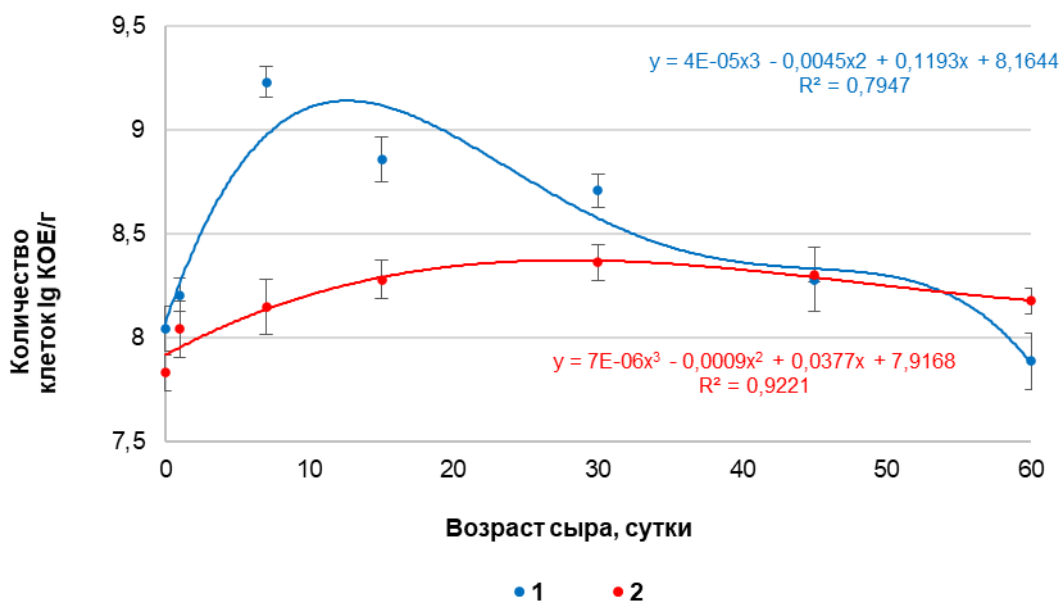
Таблица 3.20 – Статистическая значимость влияния вида закваски, времени созревания и их совокупное влияние на физико-химические и микробиологические показатели в сырах

Фактор	р	MS	F _{эмп.}	F _{кр}
Количество МКБ				
Время созревания сыра	***	1,098	26,17	2,44
Вид заквасочной микрофлоры	***	1,081	25,78	4,19
Вид МФ / Время	***	1,62	38,71	2,44
Массовая доля лактозы				
Время созревания сыра	***	8,34	729,05	3,88
Вид заквасочной микрофлоры	***	0,708	61,86	4,74
Вид МФ / Время	***	0,332	29,07	3,88
Активная кислотность				
Время созревания сыра	***	4,28	10710,2	5,31
Вид заквасочной микрофлоры	***	0,88	2200,5	5,31
Вид МФ / Время	***	1,42	3553,5	5,31
Массовая доля влаги				
Время созревания сыра	***	378,56	2205,2	5,31
Вид заквасочной микрофлоры	***	9,36	54,54	5,31
Вид МФ / Время	***	63,48	369,78	5,31
Степень протеолиза				
Время созревания сыра	***	160,64	1894,91	3,23
Вид заквасочной микрофлоры	***	4,60	54,29	4,49
Вид МФ / Время	***	5,12	60,41	3,23
<i>Примечание:</i> Полу жирным шрифтом выделено значение наиболее значимого фактора Уровень статистической достоверности оценки влияния фактора (р-значение): «-» – статистически не достоверно (р > 0,05); «*» – р < 0,05; «**» – р < 0,01; «***» – р < 0,001				

Данные дисперсионного анализа, представленные в таблице 3.20 показывают, что, массовая доля лактозы, активная кислотность, массовая доля влаги и степень протеолиза в большей степени зависят от времени созревания сыра, а количество молочнокислых микроорганизмов от вида используемой заквасочной микрофлоры совместно с временем созревания.

3.3.3 Микробиологические и физико-химические процессы во время созревания сыров, с моновидовыми культурами мезофильных лактобацилл видов *Lacticaseibacillus casei* и *Lactiplantibacillus plantarum*

На рисунке 3.54 представлены данные динамики изменения количества жизнеспособных клеток мезофильных лактобацилл в процессе созревания сыров.



1 – *Lacticaseibacillus casei*; 2 – *Lactiplantibacillus plantarum*

Рисунок 3.54 – Динамика развития заквасочной микрофлоры в процессе созревания сыров

В процессе созревания сыров (рисунок 3.54) максимум развития заквасочной микрофлоры вида *Lacticaseibacillus casei* достигается на 7 сутки и составляет $(2,0 \pm 0,1) \times 10^9$ КОЕ/г, а *Lactiplantibacillus plantarum* на 30 сутки и составляет $(3,0 \pm 0,1) \times 10^8$ КОЕ/г. К 60 суткам снижение клеточной популяции составляет для *Lacticaseibacillus casei* 1 порядок, *Lactiplantibacillus plantarum* 0,2 порядок. При этом, значение активной кислотности (таблица 3.21) снижается в варианте сыров 1 с $(6,5 \pm 0,01)$ ед. рН до $(5,0 \pm 0,02)$ ед. рН, а варианте сыра 2 с $(6,65 \pm 0,01)$ ед. рН до $(5,96 \pm 0,02)$ ед. рН, содержание влаги в сырах обоих вариантов к концу срока созревания составило $(40,0 \pm 0,2)$ % (таблица 3.21).

Основные физико-химические показатели исследуемых вариантов сыров кондиционной зрелости, представлены в таблице 3.21.

Таблица 3.21 – Физико-химические показатели сыров кондиционной зрелости

Варианты сыров	Массовые доли, %			
	влага	жир	общий белк	
			в сухом веществе	
соль				
<i>L. casei</i>	$40,1 \pm 0,4^a$	$44,9 \pm 0,1^a$	$26,1 \pm 0,2^a$	$2,4 \pm 0,1^a$
<i>L. plantarum</i>	$40,5 \pm 0,3^a$	$44,3 \pm 0,2^a$	$24,1 \pm 0,1^b$	$2,4 \pm 0,3^a$

Данные, отмеченные одинаковым индексом внутри одного столбца, не имеют статистически значимых отличий ($p > 0,05$)

Оценивая показатели остаточного количества лактозы и накопления молочной кислоты (таблица 3.22), можно сделать вывод, что в сырах с *Lacticaseibacillus casei* как в процессе выработки, так и на первом этапе созревания сыров, не обеспечивается необходимый уровень молочнокислого процесса. К 15 суткам созревания остаточное количество лактозы в сырах составляет $(0,8 \pm 0,05) \%$, а в 30 суток находится на уровне, соответствующем чувствительности метода. В сырах с *Lactiplantibacillus plantarum* как в процессе выработки, так и при созревании, не обеспечивается необходимый уровень молочнокислого процесса.

К 30 суткам созревания остаточное количество лактозы в сырах составляет $(1,95 \pm 0,05) \%$, а накопление молочной кислоты составляет только $(0,30 \pm 0,05) \%$, что отражается в показателях pH.

Таблица 3.22 – Динамика процесса кислотообразования в сырах в процессе созревания

Варианты сыров	Лактоза, %	Молочная кислота, %	Активная кислотность, ед. pH
Сыр после пресса			
<i>L. casei</i>	$2,72 \pm 0,02$	-	$6,56 \pm 0,04$
<i>L. plantarum</i>	$2,75 \pm 0,05$	-	$6,65 \pm 0,01$
Сыр 7 суток			
<i>L. casei</i>	$2,21 \pm 0,04$	$0,31 \pm 0,08$	$5,44 \pm 0,03$
<i>L. plantarum</i>	$2,45 \pm 0,05$	-	$6,61 \pm 0,01$
Сыр 15 суток			
<i>L. casei</i>	$0,84 \pm 0,05$	$1,31 \pm 0,07$	$5,03 \pm 0,11$
<i>L. plantarum</i>	$2,10 \pm 0,05$	$0,12 \pm 0,05$	$5,96 \pm 0,01$
Сыр 30 суток			
<i>L. casei</i>	следы	$2,1 \pm 0,03$	$5,02 \pm 0,02$
<i>L. plantarum</i>	$1,95 \pm 0,05$	$0,30 \pm 0,05$	$5,96 \pm 0,02$

На рисунке 3.55 представлена динамика изменения количества водорастворимого белка (а) и степени протеолиза (б) в процессе созревания сыров.

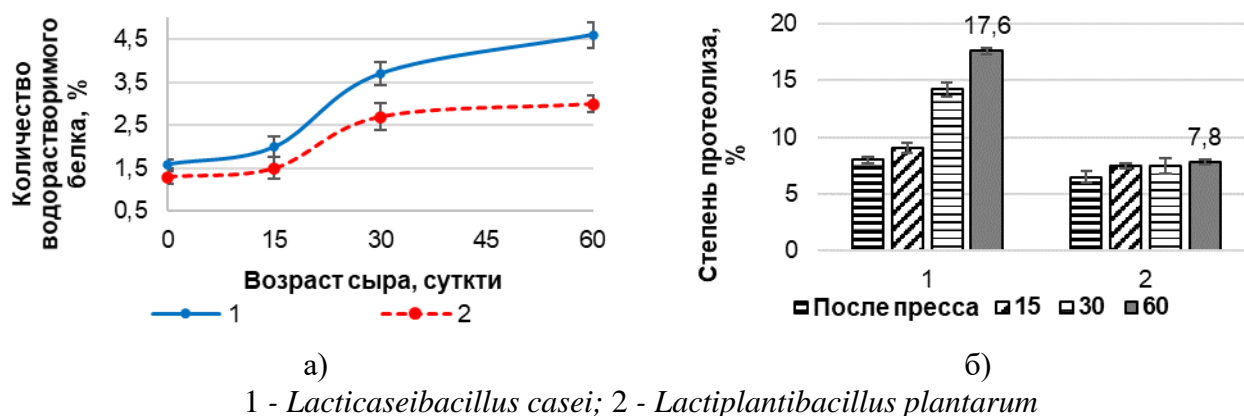
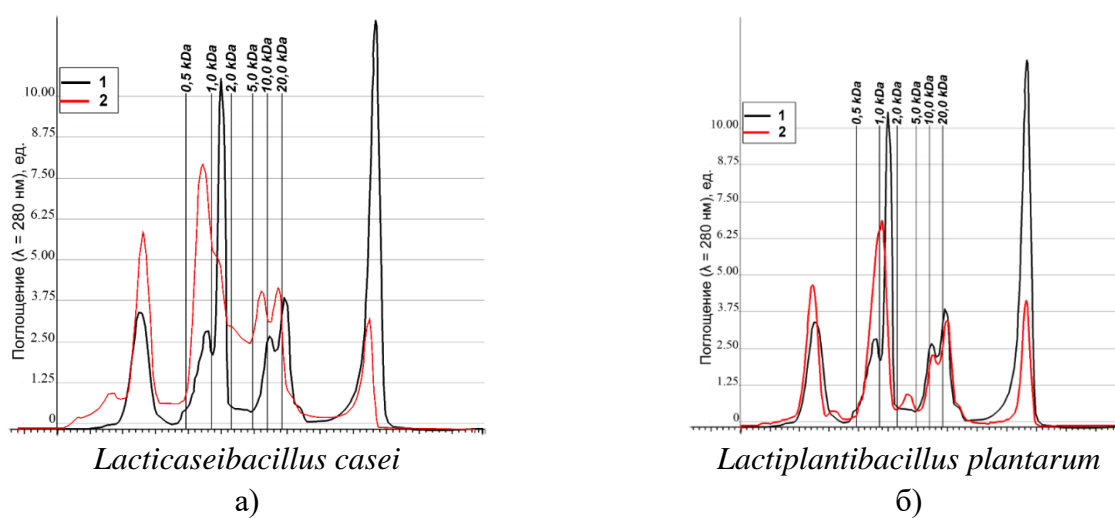


Рисунок 3.55 – Динамика изменения водорастворимого белка (а) и степени протеолиза (б) в процессе созревания сыров

Сравнительный анализ результатов прироста количества водорастворимого белка в сырах кондиционной зрелости представленный на рисунке 3.55 (а) показывает, что количество водорастворимого белка на 1,4 % выше в сырах кондиционной зрелости, выработанных с использованием моновидовой культуры *Lactocaseibacillus casei*.

Процессы протеолиза (рисунок 3.55 (б)) под действием ферментов *Lactocaseibacillus casei* активно проходят после 15 суток созревания. До этого времени увеличение степень протеолиза не значительны. В сырах, выработанных с *Lactiplantibacillus plantarum* значительного увеличения степени протеолиза за время созревания не выявлено. Увеличение степени протеолиза с стадии кондиционной зрелости сыров выработанных с *Lactocaseibacillus casei*, говорит о значительной протеолитической активности культуры. Данные выводы подтверждаются результатами молекулярно-массового распределения продуктов протеолиза в сырах кондиционной зрелости, представленными на рисунке 3.56. Сравнительный анализ молекулярно-массового распределения продуктов протеолиза в сырах после пресса и кондиционной зрелости показывает, что процесс протеолиза под действием протеолитических ферментов, выделяемых *Lactocaseibacillus casei* при развитии в сырах, приводит к накоплению значительного количества низкомолекулярных пептидов и аминокислот.



а - сыр после пресса; б - сыр кондиционной зрелости

Рисунок 3.56 – Диаграмма молекулярно-массового распределения продуктов протеолиза в сырах после пресса и кондиционной зрелости

В сырах с *Lactiplantibacillus plantarum* в процессе созревания незначительно увеличивается количество низкомолекулярных продуктов протеолиза, т.е. аминокислот и низкомолекулярных пептидов, в то время как количество полипептидов остается на начальном уровне, что является риском появления горького вкуса.

Содержание летучих вкусоароматических веществ определяли в паровой фазе сыров после пресса в возрасте кондиционной зрелости. Общее содержание летучих вкусо-ароматических веществ в сырах кондиционной зрелости представлены в таблице 3.23.

Таблица 3.23– Содержание ароматообразующих веществ в паровой фазе сыров после пресса и кондиционной зрелости

Варианты сыров	Общее содержание ароматообразующих веществ, нА·с	
	Сыр после пресса	Сыр кондиционной зрелости
<i>L. casei</i>	0,51±0,015	0,94±0,012
<i>L. plantarum</i>	0,41±0,011	0,47±0,016

Результаты анализа качественного и количественного состава вкусоароматических веществ, определяемых в сырах газо-хроматографическим методом (таблицы 3.23 и 3.24), показывают, что общее содержание в сырах кондиционной зрелости относительно сыра после прессования увеличилось на 0,4 нА·с в 1 варианте, а во 2 варианте на 0,06 нА·с.

Таблица 3.24 – Качественный и количественный состав вкусоароматических вещества экспериментальных сыров в возрасте кондиционной зрелости

Наименование ЛВАВ	Варианты сыров	
	<i>L. casei</i>	<i>L. plantarum</i>
Альдегиды, % от общего содержания ВАВ:		
Этаналь	83,2±0,02	89,11±0,03
Гептаналь	-	0,09±0,01
Бутаналь	4,23±0,01	4,37±0,13
Бутелаль-2	8,43±0,01	1,83±0,24
Кетоны, % от общего содержания ВАВ		
Пентанон-2	0,63±0,02	
Гексанон-2	0,22±0,11	
Гептанон-2	0,027±0,15	0,19±0,03
Бутанон-2	-	0,65±0,16
Спирты, % от общего содержания ВАВ:		
Этанол	0,07±0,16	
Метанол	0,07±0,21	
Пропанол-1	-	1,43±0,18
Кислоты, % от общего содержания ВАВ		
Уксусная кислота	0,21±0,01	-

Во всех исследованных сырах преобладающим вкусоароматическим веществом является этаналь. Помимо этанала в сырах кондиционной зрелости в значительном количестве определяется бутаналь, бутеналь-2 и в сырах с *Lactiplantibacillus plantarum* пропанол-1.

С целью установления влияния вида закваски, времени созревания на физико-химические и микробиологические показатели в сырах был проведен дисперсионный анализ данных. Результаты дисперсионного анализа, представлены в таблице 3.25.

Таблица 3.25 – Статистическая значимость влияния вида закваски, времени созревания и их совокупное влияние на физико-химические и микробиологические показатели в сырах

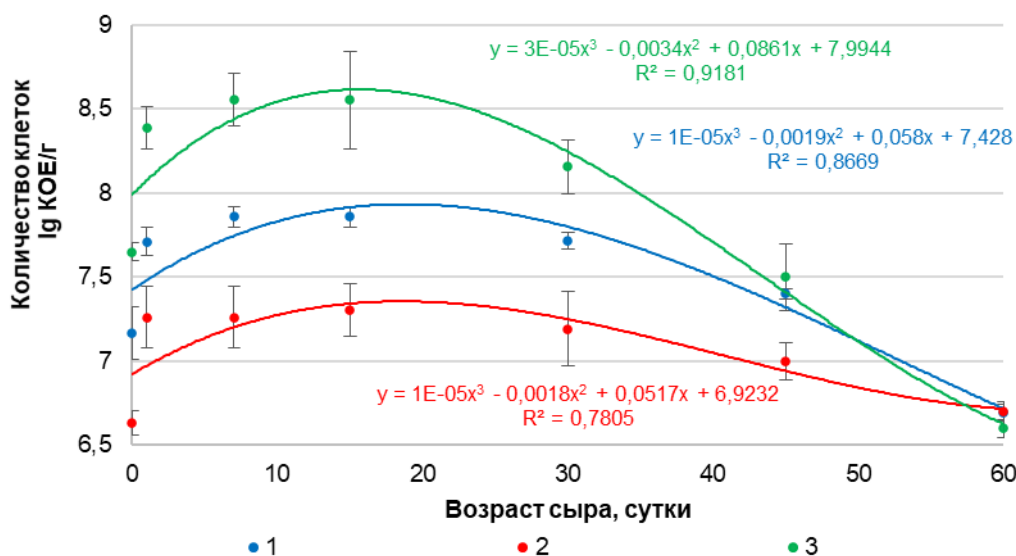
Фактор	р	MS	F _{эмп.}	F _{кр}
Количество МКБ				
Время созревания сыра	***	0,81	89,98	2,62
Вид заквасочной микрофлоры	***	1,91	211,12	4,25
Вид МФ / Время	***	0,47	51,90	2,62
Массовая доля лактозы				
Время созревания сыра	***	3,62	2009,46	3,23
Вид заквасочной микрофлоры	***	3,86	2141,73	4,49
Вид МФ / Время	***	1,46	809,46	3,23
Активная кислотность				
Время созревания сыра	***	3,64	39,08	5,31
Вид заквасочной микрофлоры	***	0,80	863,58	5,31
Вид МФ / Время	***	4,47	510,00	5,31
Массовая доля влаги				
Время созревания сыра	***	118,94	2146,43	3,23
Вид заквасочной микрофлоры	***	4,25	76,96	4,49
Вид МФ / Время	***	2,75	49,71	3,23
Степень протеолиза				
Время созревания сыра	***	93,56	3953,44	3,88
Вид заквасочной микрофлоры	***	95,32	4027,26	4,74
Вид МФ / Время	***	12,15	513,57	3,88
<i>Примечание:</i>				
Полужирным шрифтом выделено значение наиболее значимого фактора				
Уровень статистической достоверности оценки влияния фактора (р-значение):				
«-» – статистически не достоверно (р > 0,05); «*» – р < 0,05; «**» – р < 0,01; «***» – р < 0,001				

Данные дисперсионного анализа, представленные в таблице 3.25 показывают, что, количество молочнокислых микроорганизмов, массовая доля лактозы, активная кислотность и степень протеолиза в большей степени зависят от

вида используемой заквасочной микрофлоры, а массовая доля влаги от времени созревания сыра.

3.3.4 Микробиологические и физико-химические процессы во время созревания сыров с моновидовыми культурами термофильных лактобацилл видов *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus helveticus*

На рисунке 3.57 представлены данные динамики изменения количества жизнеспособных клеток заквасочной микрофлоры *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus helveticus* в процессе созревания сыра.



1 - *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; 2 - *Lactobacillus acidophilus*;
3 - *Lactobacillus helveticus*

Рисунок 3.57 – Динамика развития заквасочной микрофлоры в процессе созревания сыров

Анализ полученных результатов, представленных на рисунке 3.57, свидетельствует, что максимальное количество жизнеспособных клеток *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* достигается к 7 суткам созревания и составляет $(7,3 \pm 0,1) \times 10^7$ КОЕ/г. Для сыров кондиционной зрелости массовая доля

влаги (таблица 3.26) и активная кислотность (таблица 3.27) составляют 38,8 % и $5,25 \pm 0,01$ ед. рН соответственно.

В процессе созревания сыров максимальное количество жизнеспособных клеток (рисунок 3.57) *Lactobacillus acidophilus* достигается к 30 суткам созревания и составляет $(3,5 \pm 0,1) \times 10^7$ КОЕ/г, при этом кислотность (таблица 3.27) снижается только до рН $5,4 \pm 0,03$ ед. рН, что недостаточно с учетом того, что *Lactobacillus acidophilus* относится к сильным кислотообразователям.

Через сутки созревания развитие культуры *Lactobacillus helveticus* в сырах достигают максимума. Вымирание клеточной популяции начинается после 15 суток и к концу созревания снижается почти на 2 порядка. Во время созревания молочнокислый процесс протекает интенсивно и рН сыра кондиционной зрелости снижается с $(6,34 \pm 0,05)$ до $(4,7 \pm 0,01)$ ед.рН. Параллельно резко снижается массовая доля влаги в сыре, что оказывает влияние, как на скорость вымирания клеток и скорость ферментативных процессов, так и на органолептические показатели продукта.

Основные физико-химические показатели исследуемых вариантов сыров кондиционной зрелости, представлены в таблице 3.26.

Таблица 3.26 – Физико-химические показатели сыров кондиционной зрелости

Варианты сыров	Массовые доли, %			
	влага	жир	общий белок	соль
<i>L. bulgaricus</i>	$38,8 \pm 0,014^a$	$45,1 \pm 0,11^a$	$27,0 \pm 0,02^a$	$2,4 \pm 0,1^a$
<i>L. acidophilus</i>	$40,0 \pm 0,015^b$	$44,9 \pm 0,01^a$	$27,0 \pm 0,01^a$	$2,4 \pm 0,3^a$
<i>L. helveticus</i>	$38,2 \pm 0,011^a$	$44,8 \pm 0,015^a$	$26,8 \pm 0,03^a$	$2,3 \pm 0,1^a$

Данные, отмеченные одинаковым индексом внутри одного столбца, не имеют статистически значимых отличий ($p > 0,05$)

Оценивая динамику процесса гликолиза в сырах, представленную в таблице 3.27 видно, что скорость сбраживания лактозы в сырах с *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* медленнее, чем в сырах с *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus helveticus*, лактоза полностью сбраживается только к 30 суткам созревания. При этом выявлены остаточные количества, как галактозы, так и глюкозы. Галактоза остается не сброженной до конца срока

созревания. По накоплению молочной кислоты можно судить о том, что к 30 суткам созревания из-за не полного гидролиза галактозы уровень накопления молочной кислоты составляет около 70 % от максимально возможного. Молочнокислый процесс в сыре во время созревания идет активно, о чем свидетельствует снижение активной кислотности в сырах с $(6,62 \pm 0,01)$ ед. рН до $(5,25 \pm 0,01)$ ед. рН.

В сырах с *Lactobacillus acidophilus*, по данным, представленным в таблице 3.27 видно, что лактоза после 15 суток созревания полностью отсутствует. При этом в сырах до конца срока созревания остается значительное количество глюкозы и галактозы. Необходимо отметить, что параллельно с остаточным количеством лактозы и галактозы в сырах выявляется крайне незначительное количество молочной кислоты на уровне $(0,74 \pm 0,05)$ %, что составляет 36 % от полного сбраживания углеводов.

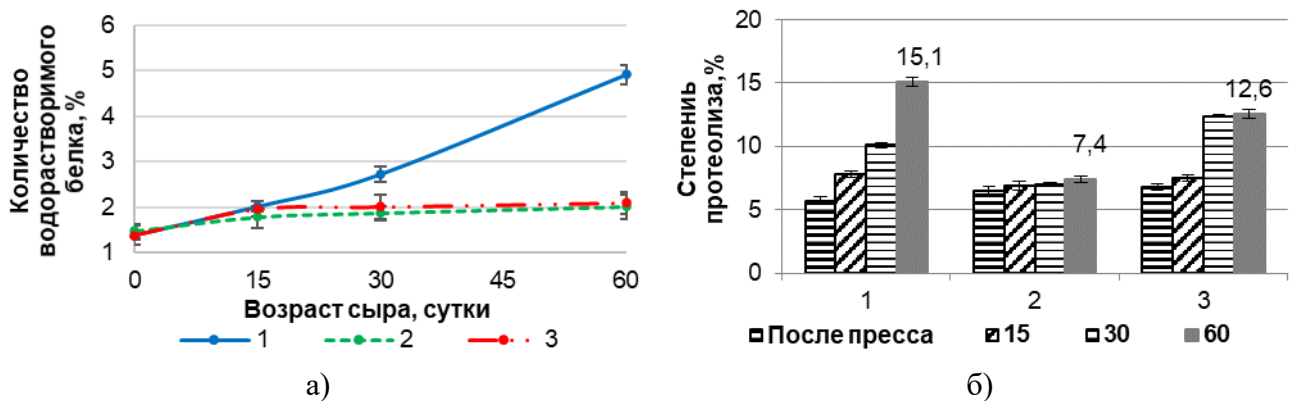
Таблица 3.27 – Динамика процесса гликолиза в сырах в процессе созревания

Варианты сыров	Лактоза, %	Глюкоза, %	Галактоза, %	Молочная кислота, %	Активная кислотность, ед. рН
Сыр после преса					
<i>L. bulgaricus</i>	$2,74 \pm 0,02$	-	-	$0,17 \pm 0,01$	$6,42 \pm 0,01$
<i>L. acidophilus</i>	$1,91 \pm 0,05$	$0,22 \pm 0,05$	$0,19 \pm 0,05$	$0,09 \pm 0,08$	$6,64 \pm 0,02$
<i>L. helveticus</i>	$0,9 \pm 0,05$	$0,51 \pm 0,01$	$0,44 \pm 0,03$	$0,31 \pm 0,03$	$6,34 \pm 0,05$
Сыр 7 суток					
<i>L. bulgaricus</i>	$2,06 \pm 0,01$	$0,19 \pm 0,02$	$0,22 \pm 0,011$	$0,23 \pm 0,01$	-
<i>L. acidophilus</i>	$0,49 \pm 0,05$	$0,78 \pm 0,05$	$0,71 \pm 0,05$	$0,2 \pm 0,05$	-
<i>L. helveticus</i>	-	$0,2 \pm 0,05$	$0,21 \pm 0,15$	$1,7 \pm 0,03$	-
Сыр 15 суток					
<i>L. bulgaricus</i>	$0,27 \pm 0,03$	$0,22 \pm 0,024$	$0,55 \pm 0,12$	$1,07 \pm 0,06$	$5,44 \pm 0,02$
<i>L. acidophilus</i>	-	$0,72 \pm 0,05$	$0,91 \pm 0,05$	$0,47 \pm 0,05$	$5,48 \pm 0,02$
<i>L. helveticus</i>	-	-	-	$2,2 \pm 0,04$	$4,7 \pm 0,01$
Сыр 30 суток					
<i>L. bulgaricus</i>	-	-	$0,58 \pm 0,03$	$1,49 \pm 0,02$	$5,25 \pm 0,02$
<i>L. acidophilus</i>	-	$0,62 \pm 0,05$	$0,92 \pm 0,05$	$0,74 \pm 0,05$	$5,4 \pm 0,03$
<i>L. helveticus</i>	-	-	-	$2,3 \pm 0,05$	$4,7 \pm 0,01$

Под действием *Lactobacillus helveticus* (таблица 3.27) к 7 суткам созревания лактоза полностью сброжена. При этом в сырах выявлено наличие глюкозы и галактозы при последующем их полном расщеплении к 15 суткам созревания. Процесс сбраживания лактозы идёт по гомоферментативному пути и при полном

сбраживании углеводов штаммами *Lactobacillus helveticus* накопление молочной кислоты достигает 100 % от расчетного.

Сравнительный анализ результатов, представленных на рисунках 3.55 показывает, что процессы протеолиза под действием *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* проходят интенсивнее, чем в сырах с *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus helveticus*, о чем свидетельствует большее количество водорастворимого белка и большая степень протеолиза. Хроматограмма молекулярно-массового распределения продуктов протеолиза (рисунок 3.58), свидетельствует, что в процессе созревания количество низкомолекулярных продуктов протеолиза, т.е. аминокислот и низкомолекулярных пептидов в сырах с *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* значительно увеличивается относительно сыра после пресса.

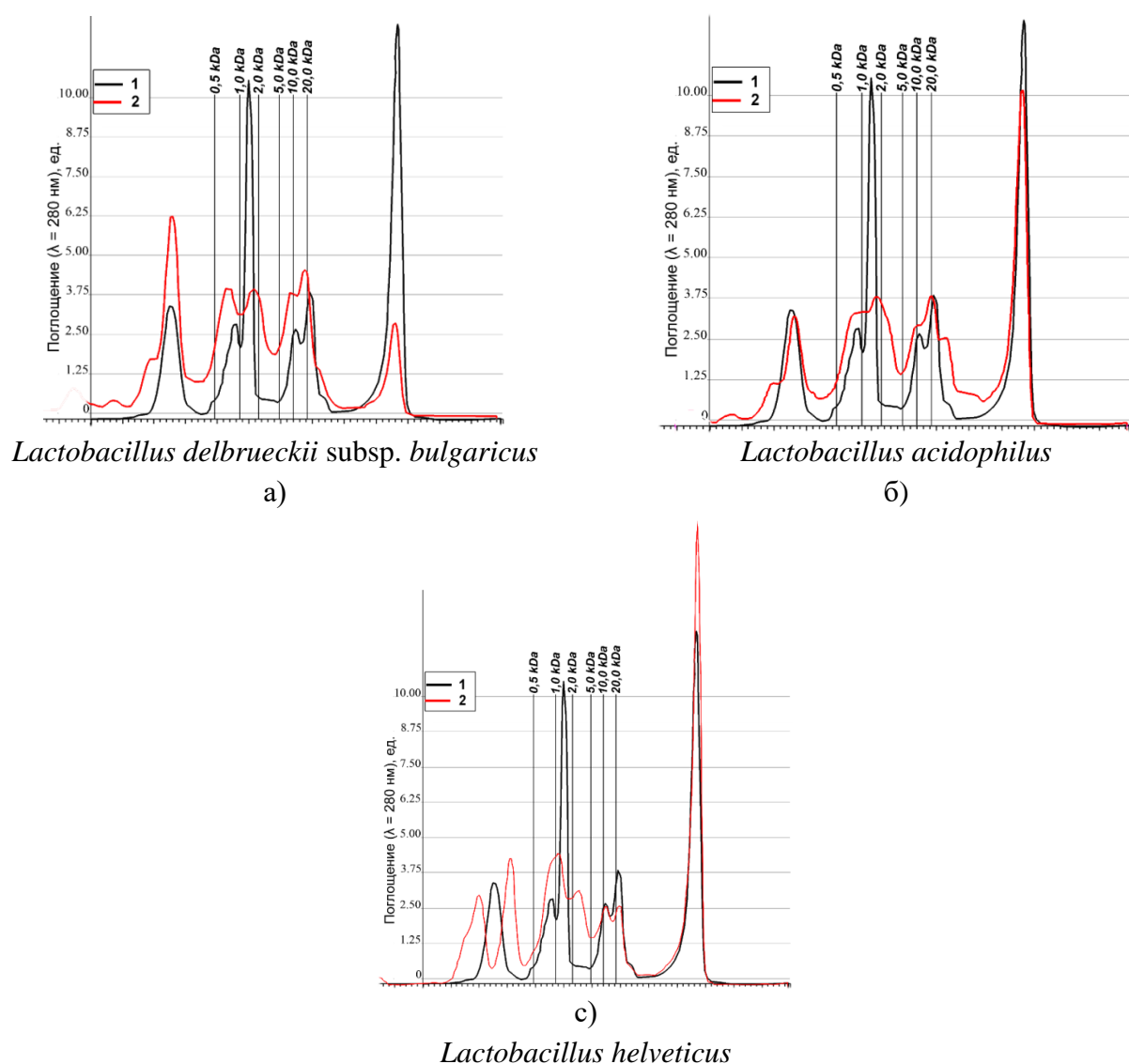


1 - *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; 2 - *Lactobacillus acidophilus*; 3 - *Lactobacillus helveticus*

Рисунок 3.58 – Динамика изменения водорастворимого белка (а) и степени протеолиза (б) в процессе созревания сыров

В сырах с *Lactobacillus acidophilus*, количество водорастворимого белка в процессе созревания (рисунок 3.58 (а)) колеблется в интервале от $1,5 \pm 0,01$ % до $2,0 \pm 0,1$ %, а степень протеолиза (рисунок 3.58 (б)) при этом возрастает лишь от $6,6 \pm 0,1$ % в сыре после пресса до $7,3 \pm 0,1$ % в сырах кондиционной зрелости, что нельзя считать значимым различием. Полученные данные совпадают с общепринятыми представлениями о том, что *Lactobacillus acidophilus* обладает незначительной протеолитической активностью.

Хроматограмма молекулярно-массового распределения продуктов гидролиза белка в сырах после пресса и сырах кондиционной зрелости, представленная на рисунке (рисунок 3.59 (б)), показывает, что в сырах с *Lactobacillus acidophilus* в процессе созревания количество низкомолекулярных продуктов протеолиза, т.е. аминокислот и низкомолекулярных пептидов практически не увеличивается, но наблюдается некоторый сдвиг в молекулярно-массовом распределении. Увеличение пика не прогидролизованного белка в зрелых сырах относительно сыров после пресса можно отнести за счет увеличения массовой доли сухих веществ



1-сыр после пресса; 2-сыр кондиционной зрелости

Рисунок 3.59 – Диаграмма молекулярно-массового распределения продуктов протеолиза в сырах после пресса и кондиционной зрелости

Оценивая протеолиз казеинов под действием ферментов *Lactobacillus helveticus* (рисунок 3.58 и 3.59), можно говорить о крайне незначительной степени разложения белка в процессе созревания сыра. Однако хроматограмма молекулярно-массового распределения водорастворимых продуктов гидролиза белка (рисунок 3.59 (с)), в сырах после пресса и кондиционной зрелости, показывает, что в сырах кондиционной зрелости уменьшается количество полипептидов и увеличивается количество свободных аминокислот и низкомолекулярных пептидов.

Содержание летучих вкусоароматических веществ определяли в паровой фазе сыров после пресса в возрасте кондиционной зрелости. Общее содержание летучих вкусо-ароматических веществ в сырах кондиционной зрелости представлены в таблице 3.28.

Таблица 3.28 – Содержание вкусоароматических веществ в паровой фазе сыров после пресса и кондиционной зрелости

Варианты сыров	Общее содержание ароматообразующих веществ, нА·с	
	Сыр после пресса	Сыр кондиционной зрелости
<i>L. bulgaricus</i>	0,33±0,02	0,58±0,02
<i>L. acidophilus</i>	0,58±0,01	0,59±0,01
<i>L. helveticus</i>	0,41±0,02	0,77±0,02

Из данных, представленных в таблице 3.28, следует, что из всех вариантов сыров с термофильными лактобациллами наибольшее количество ароматообразующих веществ содержит паровая фаза сыра кондиционной зрелости, выработанного с *Lactobacillus helveticus* и составляет 0,774 нА·с. В сырах, выработанных с использованием моновидовой культуры *Lactobacillus acidophilus*, значимых различий в общем количестве вкусоароматических веществ как в сыре после пресса, так и в кондиционной зрелостине выявлено.

По результатам количественного анализа сыров кондиционной зрелости, представленного в таблицах 3.29, следует, что во всех исследованных образцах сыров летучие вкусоароматические вещества представлены, главным образом,

альдегидами. Помимо альдегидов в большем объеме обнаружено в сырах, выработанных с использованием *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* уксусная кислота – 18,0 %, пропанол - 1 – 1,43 % и масляная кислота – 1,08; в сырах с *Lactobacillus helveticus* пропанол - 1 – 12,66 %, гептанон – 1,24 % и изо-гексаналь – 1,23 %.

Таблица 3.29 – Качественный и количественный состав вкусоароматических вещества экспериментальных сыров в возрасте кондиционной зрелости

Наименование ЛВАВ	Варианты сыров		
	<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. helveticus</i>
Альдегиды, % от общего количества ВАВ			
Этаналь	0,17±0,01	74,52±0,18	59,1±0,25
Пентаналь	57,62±0,02	-	0,20±0,01
Изо-гексаналь	-	-	1,23±0,15
Бутаналь	9,43±0,14	13,8±0,14	18,11±0,03
Бутелаль-2	8,43±0,01	7,08±0,11	0,11±0,11
Кетоны, %, от общего количества ВАВ			
Пентанон-2	-	0,01±0,01	-
Гептанон	-	-	1,24±0,16
Спирты, % от общего количества ВАВ			
Метанол	-	-	0,21±0,03
Пропанол-1	1,43±0,01	-	12,66±0,12
Кислоты, % от общего количества ВАВ			
Уксусная кислота	18,01±0,18	-	-
Масляная кислота	1,08±0,11	-	-

С целью установления влияния вида закваски, времени созревания на физико-химические и микробиологические показатели в сырах был проведен дисперсионный анализ данных. Результаты дисперсионного анализа, представлены в таблице 3.30.

Таблица 3.30 – Статистическая значимость влияния вида закваски, времени созревания и их совокупное влияние на физико-химические и микробиологические показатели в сырах

Фактор	p	MS	F _{эмп.}	F _{кр}
Количество МКБ				
Время созревания сыра	***	1,98	186,97	3,0
Вид заквасочной микрофлоры	***	6,61	621,97	3,4
Вид МФ / Время	***	1,03	96,91	2,5
Массовая доля лактозы				
Время созревания сыра	***	9,72	1156,4	3,0
Вид заквасочной микрофлоры	***	1,21	73,4	3,4
Вид МФ / Время	***	1,24	325,7	2,5
Активная кислотность				
Время созревания сыра	***	7,03	132,1	4,74
Вид заквасочной микрофлоры	***	0,46	27,3	3,88
Вид МФ / Время	**	0,22	5,67	3,88
Массовая доля влаги				
Время созревания сыра	***	435,12	6256,8	4,74
Вид заквасочной микрофлоры	***	6,50	93,96	3,88
Вид МФ / Время	**	0,68	9,88	3,88
Степень протеолиза				
Время созревания сыра	***	423,42	1473,2	3,0
Вид заквасочной микрофлоры	***	27,63	96,15	3,4
Вид МФ / Время	***	2,23	7,77	2,5
<i>Примечание:</i>				
Полужирным шрифтом выделено значение наиболее значимого фактора				
Уровень статистической достоверности оценки влияния фактора (p-значение):				
«-» – статистически не достоверно (p > 0,05); «*» – p < 0,05; «**» – p < 0,01; «***» – p < 0,001				

Данные дисперсионного анализа, представленные в таблице 3.30 показывают, что, массовая доля лактозы, активная кислотность, массовая доля влаги и степень протеолиза в большей степени зависят от времени созревания сыра, а количество молочнокислых микроорганизмов от вида используемой заквасочной микрофлоры.

В результате данной серии экспериментов установлено, что:

- молочнокислый процесс в сырах с использованием моновидовых культур лактококков идет интенсивно и к 15 суткам лактоза сброжена до молочной кислоты
- в процессе созревания отмечено развитие *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Leuconostoc* subsp., *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus acidophilus*, вымирание *Lactococcus cremoris* наиболее интенсивное;

- процессы развития у штаммов *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и *Lactobacillus helveticus* после посолки и в процессе созревания сыров полностью отсутствуют;

- *Leuconostoc* subsp. и *Lacticaseibacillus casei* недостаточно интенсивно сбраживают лактозу в процессе выработки, однако, в процессе созревания к 15 суткам лактоза полностью гидролизована без накопления глюкозы и галактозы;

- молочнокислый процесс под действием экзоферментов *Lactiplantibacillus plantarum* идет крайне медленно и в сырах кондиционной зрелости накопление молочной кислоты составляет порядка 13-15 % от максимально возможного при полном сбраживании лактозы, результатом чего является крайне высокое значение рН в сыре кондиционной зрелости;

- для термофильных палочек *Lactobacillus helveticus* и *Lactobacillus acidophilus* выявлено накопление, как глюкозы, так и галактозы в сырах после прессования, а в сырах с *Lactobacillus acidophilus* моносахара сохраняются не метаболизированными после 60 суток созревания; с *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* сохраняется галактоза, что объясняет незначительное накопление молочной кислоты при полном сбраживании лактозы;

- разные подвиды лактококков несколько отличаются по интенсивности и направленности протеолитических процессов, эти процессы наиболее активно идут в сырах, выработанных с *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и самая низкая протеолитическая активность наблюдается в сырах, выработанных с *Lactococcus cremoris*;

- наибольшую протеолитическую активность, проявляют культуры *Lacticaseibacillus casei* и *Streptococcus thermophilus*, как по интенсивности, так и глубине разложения казеинов, а наименьшую *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus helveticus*;

- наибольшее количество ВАВ, как и ожидалось накапливается в сырах, выработанных с использованием газо-и ароматообразующей микрофлоры *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp., при выработке сыров с моновидовыми заквасочными культурами термофильных лактобацилл не наблюдается как существенного процесса протеолиза, так и накопления ВАВ, исключение составляют сыры, выработанные с *Lactobacillus helveticus*, при

метаболизме которых накапливаются ВАВ, придающие сыру оригинальные фруктовые ноты;

- температуру созревания (11 ± 1) °С, как технологическую операцию производства полутвердых созревающих сыров с низкой температурой второго нагревания, можно рассматривать как ККТ, определяющую риски снижения интенсивности и направленности развития заквасочной микрофлоры во время созревания сыров.

3.4 Органолептическая оценка сыров, выработанных с использованием моновидовых культур заквасочных микроорганизмов

Как показали исследования покупательских предпочтений большинство из респондентов при выборе сыра отдают предпочтение полутвердым сырам с умеренно выраженным сырным и сливочными вкусом [155]. Большинство традиционных полутвердых сыров (Голландский, Костромской, Ярославский, Степной и др.) имеет характеристику вкуса «умеренно (или) выраженный сырный, слегка кисловатый, с наличием остроты» [4]. Эта стандартизованная характеристика должна обеспечиваться применением при изготовлении сыров определённого состава заквасочной микрофлоры, соответствующего технологическим приемам производства. Органолептическая оценка экспериментальных сыров проводилась в соответствии с требованиями ГОСТ 33630-2015 (на органолептическую оценку) по шкале балловой оценки [156] для данной группы сыров и учетом потребительских предпочтений в возрасте 30 и 60 суток.

3.4.1 Органолептическая оценка сыров, выработанных с использованием моновидовых заквасочных микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus thermophilus*

Профилограммы органолептических показателей сыров кондиционной зрелости представлены на рисунке 3.60.



Рисунок 3.60 – Профилограммы органолептических показателей сыров кондиционной зрелости

Из представленных данных на рисунке 3.60 следует, что в сырах с *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* преобладал кислый вкус со слабо выраженным сырным. В сырах с *Lactococcus cremoris* вкус сыров умеренно выраженный сырный с легкой кислотой и сливочностью. В вариантах сыров с *Streptococcus thermophilus* вкусовой букет более ограничен в оттенках относительно сыров с лактококками характеризуется как слабо выраженный сырный, однако с меньшей кислотой во вкусе и легкой остринкой.

Консистенцию сыров в процессе созревания оценивали органолептически (таблица 3.31).

В сырах кондиционной зрелости выработанных с *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Lactococcus cremoris*, консистенция (таблица 3.31) характеризовалась как вязкая, ломкая, мажущая. В сырах, с *Streptococcus thermophilus* плотная, несвязная.

Таблица 3.31 – Характеристика консистенции сыров

Варианты сыров	Возраст, сутки			
	30 сут		60 сут	
	Характеристика	Балл	Характеристика	Балл
<i>Lc. lactis</i>	Вязкая, ломкая	22±1	Мажущаяся, ломкая, несвязная	22±1
<i>Lc. cremoris</i>	Удовлетворительная, слегка несвязная	23±1	Консистенция мажущаяся.	22±1
<i>Str. thermophilus</i>	Плотная	24±1	Плотная, несвязная	22±1

Важным показателем качества созревающих сыров, формируемых из пласта, является рисунок. Рисунок отражает правильность протекания биохимических и микробиологических процессов, физико-химические свойства сырного теста. В сырах, формируемых из пласта под слоем сыворотки, рисунок формируется в результате жизнедеятельности газообразующей заквасочной микрофлоры сыра в процессе созревания в виде глазков различного размера и формы (рисунок 3.61).



Lactococcus lactis subsp. *lactis*



Lactococcus cremoris



Streptococcus thermophilus

Рисунок 3.61 – Фотографии экспериментальных сыров в возрасте кондиционной зрелости

Как видно из рисунка 3.61. в вариантах сыров, выработанных с *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris* и *Streptococcus thermophilus*, как и предполагалось, наблюдается отсутствие рисунка. Цвет сырного теста в варианте с *Streptococcus thermophilus* однородный. В образцах сыров, выработанных с лактококками, наблюдается образование ореола разной интенсивности. Сыры, выработанные с *Lactococcus cremoris*, имели наиболее выраженный ореол, который появился на начальных сроках созревания и сохранялся до кондиционной зрелости сыра, что является значимым пороком при оценке качественных показателей сыра.

3.4.2 Органолептическая оценка сыров, выработанных с использованием моновидовых культур заквасочных микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp.

Профилограммы органолептических показателей сыра кондиционной зрелости представлены на рисунке 3.62.

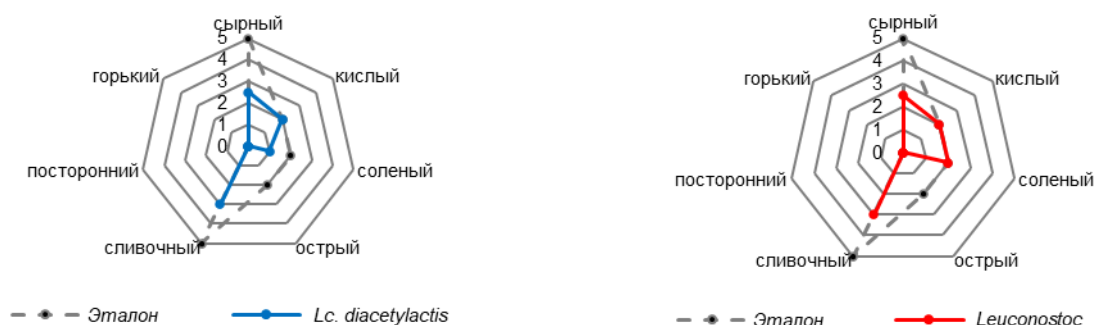


Рисунок 3.62 – Профилограммы органолептических показателей сыра кондиционной зрелости

Из представленных данных на рисунке 3.62 следует, что сыры, выработанные с *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* имели умеренно выраженный сырный вкус, со слабой кислотой и сливочный аромат. Сыры с *Leuconostoc* subsp., в 60 суток созревания имели чистый вкус и аромат, вкус сыров характеризовался как умеренно выраженный сырный, со слабой кислотой и легкой сливочностью.

Характер изменения консистенции сыров в процессе созревания оценивали органолептически в возрасте 30 и 60 суток (таблица 3.32).

Таблица 3.32 – Характеристика консистенции сыров

Варианты сыров	Возраст, сутки			
	30 сут		60 сут	
	Характеристика	Балл	Характеристика	Балл
<i>Lc. diacetylactis</i>	Слегка пластичная, связная	23±1	Эластичная	23±1
<i>Leuconostoc</i>	Пластичная (более плотный подкорковый слой)	23±1	Липкая, пластичная	22±1

В процессе созревания сыров с *Leuconostoc* subsp. наблюдается ухудшение консистенции (таблица 3.32), усилилась пластичность, появилась липкость, что можно объяснить значительным падением рН сыра и накоплением продуктов метаболизма лейконостоков. В сырах с *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* консистенция улучшилась и характеризовалась как эластичная.

Важным показателем качества сыров, формируемых из пласта, является рисунок. Фото сыров кондиционной зрелости представлены на рисунке 3.63



Lactococcus lactis subsp. *diacetylactis*



Leuconostoc subsp.

Рисунок 3.63 – Фотографии экспериментальных сыров в возрасте кондиционной зрелости

Анализируя рисунки сыров в возрасте кондиционной зрелости (рисунок 3.63) видно, что в сырах, выработанных с *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, рисунок равномерный с глазками правильной формы. В сырах с *Leuconostoc* subsp. на протяжении всего срока созревания отмечался неравномерно окрашенный цвет сырного теста с более выраженным центром, что являлось пороком при оценке качественных показателей сыров. В то же время в сырах с *Leuconostoc* subsp. рисунок переразвитый, состоящий из глазков неправильной формы и трещин. На формирование рисунка в сырах с *Leuconostoc* subsp., по всей видимости, оказывает влияние не только газообразующая способность заквасочной культуры, но и избыточная влажность сыра на первых этапах созревания при снижении pH после 15 суток.

3.4.3 Органолептическая оценка сыров, выработанных с использованием моновидовых культур заквасочных микроорганизмов *Lacticaseibacillus casei* и *Lactiplantibacillus plantarum*

Органолептические характеристики сыров, представленные на рисунке 3.64 показывают, что сыры с *Lacticaseibacillus casei*, как в 30 суток, так и в стадии кондиционной зрелости оставались без изменений, при этом пороки вкуса отсутствовали, и степень выраженности сырного вкуса и аромат в процессе созревания не усиливалась. Сыры с *Lactiplantibacillus plantarum* в возрасте 30 суток

и кондиционной зрелости имели чистый слабо выраженный сырный вкус, со слабой кислотой и выраженной соленостью.

Профилограммы органолептических показателей сыра кондиционной зрелости представлены на рисунке 3.64.

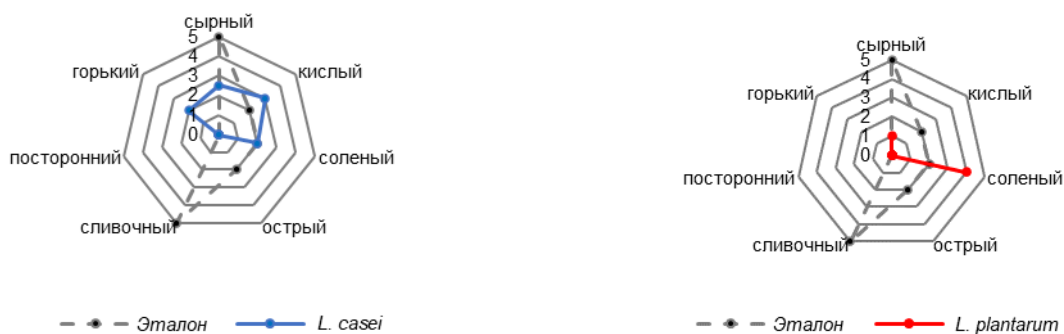


Рисунок 3.64 – Профилограммы органолептических показателей сыров кондиционной зрелости

Характер изменения консистенции сыра в процессе созревания оценивали органолептически в возрасте 30 и 60 суток (таблица 3.33).

Таблица 3.33– Характеристика консистенции сыров

Варианты сыров	30 сут		60 сут	
	Характеристика	Балл	Характеристика	Балл
<i>L. casei</i>	Плотная, несвязная	22	Мажущаяся	22
<i>L. plantarum</i>	Плотная, несвязная	22	Плотная	22

В кондиционной зрелости консистенция характеризовалась в сырах с *Lacticaseibacillus casei* как мажущая, а в сырах с *Lactiplantibacillus plantarum* как плотная, что во всех вариантах не характерно для данной группы сыров.

Важным показателем качества сыров, формируемых из пласта, является рисунок. Фото сыров кондиционной зрелости представлены на рисунке 3.65



Lacticaseibacillus casei



Lactiplantibacillus plantarum

Рисунок 3.65 – Фотографии сыров в возрасте кондиционной зрелости

Как видно из рисунка 3.65 сыры, выработанные с *Lacticaseibacillus casei* имели равномерно окрашенный цвет сырного теста. В сырах с *Lactiplantibacillus plantarum* отмечено неравномерное окрашивание сырного теста – мраморность и отделение свободной влаги. Рисунок во всех вариантах сыров отсутствовал, что закономерно, т.к. *Lacticaseibacillus casei* и *Lactiplantibacillus plantarum* не относится к газообразующей микрофлоре.

3.4.4 Органолептическая оценка сыров, выработанных с использованием моновидовых культур заквасочных микроорганизмов *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus helveticus*

Из представленных данных на рисунке 3.66 следует, что сыры с *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* в возрасте кондиционной зрелости имели чистый слабо выраженный сырный вкус, со слабой кислотой. Вкус сыров с *Lactobacillus acidophilus* характеризовался, как чистый, пустой, со слабо выраженным сырным вкусом и слабой кислотой, вкус сыров, выработанных с моновидовой культурой *Lactobacillus helveticus*, в процессе созревания характеризовался как слабо выраженный сырный с легкими фруктовыми нотами и умеренной кислотой.



Рисунок 3.66 – Профилограммы органолептических показателей сыров кондиционной зрелости

Таблица 3.34 – Характеристика консистенции сыров

Варианты сыров	Возраст, сутки			
	30 сут		60 сут	
	Характеристика	Балл	Характеристика	Балл
<i>L. bulgaricus</i>	Вязкая	22±1	Слегка плотная	22±1
<i>L. acidophilus</i>	Однородная, плотная	22±1	Однородная, плотная	22±1
<i>L. helveticus</i>	Плотная	23±1	Плотная, слегка ломкая	22±1

Консистенция сыров (таблица 3.34) с *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* в возрасте 30 суток характеризовалась как вязкая, а в 60 суток как менее вязкая, слегка плотная. В сырах с *Lactobacillus acidophilus* в процессе созревания консистенция характеризовалась, как однородная, плотная. В сырах кондиционной зрелости с *Lactobacillus helveticus* отмечено изменение консистенции в сторону ломкости.

На рисунке 3.67 представлены фотографии сыров в возрасте кондиционной зрелости выработанные с использованием моновидовых культур *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus helveticus*.

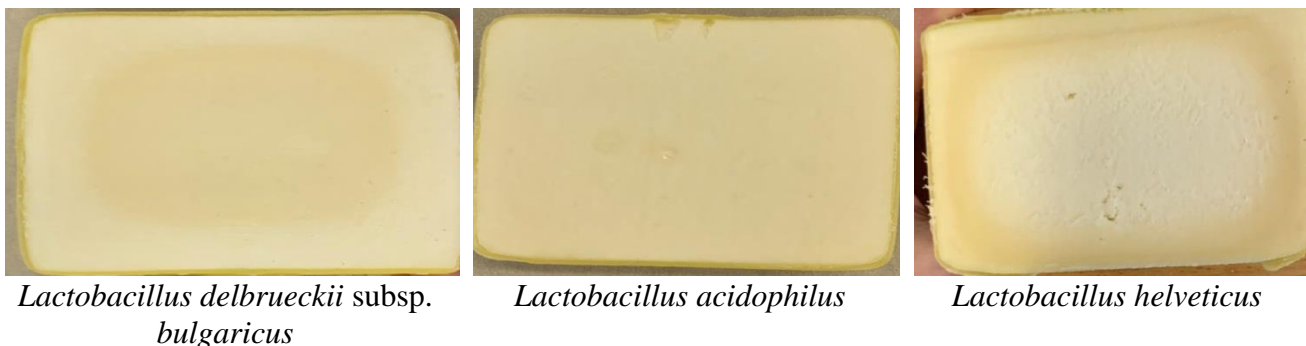


Рисунок 3.67 – Фотографии экспериментальных сыров в кондиционном возрасте

В сырах с *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* отмечено неравномерное окрашивание сырного теста, т.е. центр головки имеет более интенсивную окраску, чем края (размер края 2 см). Цвет теста сыров с *Lactobacillus acidophilus* равномерный. В сырах с *Lactobacillus helveticus* отмечено наличие ореола. Рисунок во всех вариантах сыров с термофильными лактобациллами отсутствовал, что закономерно, т.к. данная заквасочная микрофлора не являются газообразующими микроорганизмами.

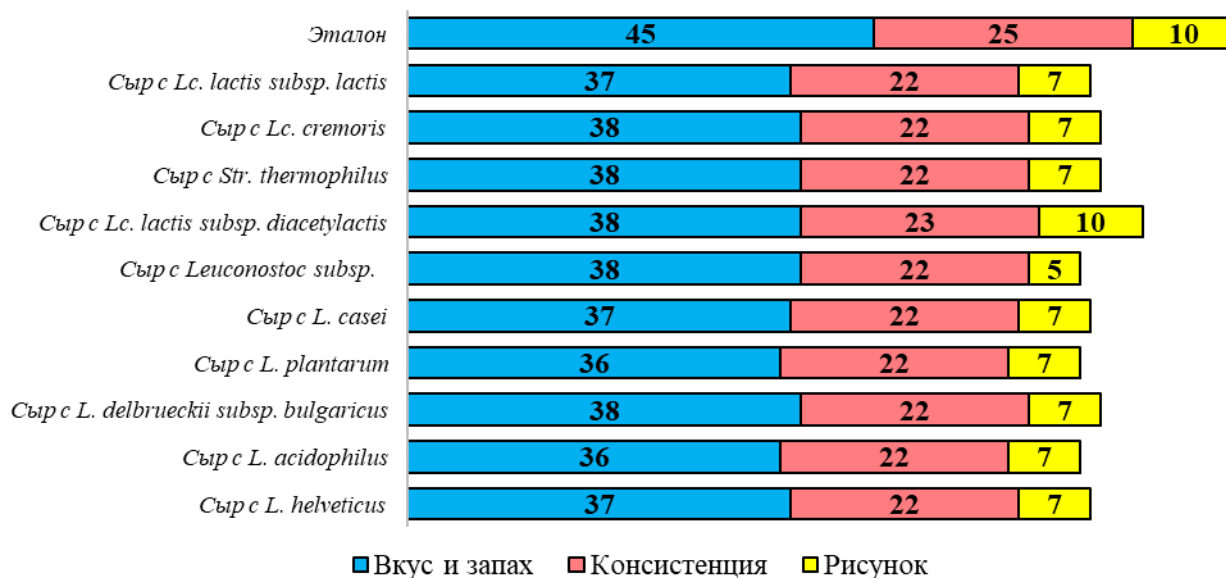


Рисунок 3.68 – Суммарная органолептическая оценка показателей модельных сыров кондиционной зрелости

На основании полученных органолептических характеристик модельных сыров с моновидовыми культурами установлено, что ни один из исследуемых видов микроорганизмов не обеспечивает получение искомых органолептических характеристик полутвердых сыров, в том числе выраженного сырного вкуса и аромата, эластично-пластичной консистенции и соответствующего внешнего вида (однородный цвет теста без ореола и мраморности, а также рисунок в виде мелких глазков правильной формы).

ГЛАВА 4 РАЗРАБОТКА ТЕХНИЧЕСКОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ

Научные исследования по диссертационной работе проводились в рамках темы по Гос. заданию № 0585-2019-0010 «Разработать требования к видовому составу и биологическим свойствам бактериальных заквасок для производства ферментированных молочных продуктов, в том числе сыров, с целью обеспечения национальной продовольственной безопасности и стабилизации качества продукции».

В результате проведенной работы были получены новые знания о важных для сыроделия свойствах различных видов молочнокислых заквасочных микроорганизмов и предложен комплексный подход к оценке заквасочных культур по скорости их развития и способности обеспечивать необходимую интенсивность кислотообразования в условиях выработки сыров и способности осуществлять направленный метаболизм в процессе созревания, с учетом особенностей технологических режимов производства и качественных показателей готового продукта.

Подбор заквасочных культур для производства конкретных видов ферментируемых молочных продуктов во многом определяется температурными и временными параметрами технологического процесса их изготовления, сроками хранения и характерными органолептическими показателями. Так для производства полутвердых сыров при подборе состава бактериальных заквасок наиболее значимыми свойствами следует считать скорость и интенсивность развития и кислотообразования заквасочных молочнокислых микроорганизмов в условиях выработки, отношение к сычужному ферменту, термостабильность при температурах второго нагревания (41 ± 2) °С; а в процессе созревания солеустойчивость, психротрофность, газо - ароматобразующую способность и ферментативную активность, включающую интенсивность и направленность процессов гликолиза, протеолиза, липолиза и образование вкусоароматических веществ.

Опираясь на анализ научно-технической литературы, обобщая многолетний практический опыт работы специалистов ВНИИМС по подбору культур в состав

бактериальных заквасок и результаты проведенных исследований, представленных в данной работе на примере полутвердых сыров Голландской группы, разработаны МП 021–2023 «Общие и специфические требования к бактериальным закваскам с учетом состава микрофлоры, количества жизнеспособных клеток, физического состояния и особенностей технологии производства сыров» (Приложение В).

МП 021–2023 «Общие и специфические требования к бактериальным закваскам с учетом состава микрофлоры, количества жизнеспособных клеток, физического состояния и особенностей технологии производства сыров», разработанные с использованием полученных статистически достоверных результатов проведенной работы, конкретизируют целесообразность использования определенных видов/подвидов заквасочных культур с учетом особенностей их развития и метаболизма в условиях выработки и созревания сыров.

Результаты исследований хода микробиологических, физико-химических и биохимических процессов под действием конкретных видов заквасочных микроорганизмов при выработке и созревании в модельных полутвердых сырах, с учетом рисков, определяемых температурными, временными и иными факторами, связанными с технологическими режимами производства, позволяют прогнозировать, как степень положительного влияния культур на ход технологического процесса и органолептические показатели сыров, так и риски снижения качества продукта за счет появления тех или иных пороков вкуса, консистенции, рисунка.

Целью разработанных Методических положений является оказание помощи молокоперерабатывающим предприятиям в подборе поливидовых бактериальных заквасок с учетом видового состава микрофлоры и соотношения культур, исходя из наличия возможности их развития и метаболизма в условиях конкретных режимов производства и требований к готовому продукту.

Методические положения включают:

- перечень необходимых для понимания терминов и определений;
- классификацию заквасочных культур по их целевому назначению;

- методы контроля различных групп заквасочных микроорганизмов, в том числе для оценки в составе бактериальных заквасок количества жизнеспособных клеток микроорганизмов, относящихся к различным группам, в том числе кислотообразующей, газо – ароматообразующей, протеолитически активной, термостойкой, психротрофной и солеустойчивой микрофлоре;

- описание общих и специфических свойств отдельных видов молочнокислых микроорганизмов, используемых в сыроделии;

- оценку интенсивности роста и направленность метаболизма отдельных видов заквасочных микроорганизмов в зависимости от температурных, временных и иных факторов, определяемых технологическими режимами производства конкретных групп сыров;

- оценку целесообразности использования культур для выработки и созревания сыров, с учетом их целевого назначения, влияющего на формирование органолептических показателей и рисков снижения потребительских характеристик продукта.

Системный подход, положенный в основу Методических положений, даст возможность производителям ферментируемой молочной продукции организовать производственный контроль состава микрофлоры бактериальных заквасок, соотношения количества микроорганизмов целевого назначения для правильного выбора заквасок при производстве конкретных видов сыров высокого качества.

Результаты работы имеют народнохозяйственное значение, так как могут быть использованы предприятиями отрасли при подборе бактериальных заквасок для получения сыров высокого качества с определенными потребительскими характеристиками.

ВЫВОДЫ

1. Проведен мониторинг динамики развития и кислотообразования МКМ в модельных молочных средах в условиях, имитирующих режимы выработки и созревания полутвердых сыров. Установлено, что данный подход может быть использован для оценки «характера поведения» культур в процессе выработки сыров, но не созревания. Для прогноза влияния конкретного вида заквасочных МО на процесс созревания и формирование органолептических показателей сыров необходимо проводить исследования процессов в модельных сырах.

2. Экспериментально подтверждено, что для обеспечения нормального протекания молочнокислого процесса при выработке сыров достаточно использовать культуры *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* и *Streptococcus thermophilus*. При использовании *Lactococcus cremoris* необходимо снижение температуры второго нагревания. *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lacticaseibacillus casei* и *Leuconostoc* subsp. не обеспечивают достаточного уровня молочнокислого процесса во время выработки сыра за счет низкой кислотообразующей активности, а *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и *Lactobacillus helveticus* – за счет медленного развития.

3. Установлено, что в процессе созревания сыров штаммы лактококков, *Leuconostoc* subsp., мезофильных палочек продолжают развиваться и могут быть отнесены к созревательным культурам. *Streptococcus thermophilus* и термофильные палочки в условиях созревания приостанавливают развитие, однако процессы идут под действием ферментов, выделенных клетками во время выработки и на первых этапах созревания. Полученные результаты позволяют прогнозировать интенсивность и направленность процессов гликолиза, протеолиза и вкусообразования при созревании сыров, выработанных с использованием конкретных видов заквасочных микроорганизмов.

4. Полученные результаты позволяют с определенной долей вероятности прогнозировать влияние конкретных видов заквасочных микроорганизмов на

формирование органолептических показателей полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания и оценить риски снижения потребительских характеристик готового продукта. Все модельные сыры, выработанные на моновидовых культурах, не обладали достаточно выраженным сырным вкусом. Избыточное содержание *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Lactobacillus helveticus* в полутвердых сырах является риском излишне кислого вкуса; *Lacticaseibacillus casei* – горечи; *Lactiplantibacillus plantarum* и *Lactobacillus acidophilus* – пустого вкуса; *Lactobacillus helveticus* – специфических пряных нот. Для сыров с *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris* и *Lacticaseibacillus casei* существует риск формирования мажущей консистенции; для сыров с *Streptococcus thermophilus*, *Lactiplantibacillus plantarum* и термофильными палочками – излишне плотной консистенции, а с *Leuconostoc subsp.* – липкой пластичной консистенции. Избыточное количество *Leuconostoc subsp.* в сырах приводит к переразвитому щелевидному рисунку, а с *Lactococcus cremoris*, *Lactobacillus helveticus* и *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* связан риск образования устойчивого ореола.

5. Разработаны методические положения МП 021–2023 «Общие и специфические требования к бактериальным закваскам с учетом состава микрофлоры, количества жизнеспособных клеток, физического состояния и особенностей технологии производства сыров» для научно обоснованного подбора поливидовых бактериальных заквасок молокоперерабатывающими предприятиями, с учетом их видового состава и соотношения культур, исходя из возможности их развития и метаболизма в условиях конкретных технологических режимов производства и требований к готовому продукту.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

МО – микроорганизмы;

МКМ – молочнокислые микроорганизмы;

КОЕ – колониеобразующие единицы;

МСФ – молокосвертывающий сычужный фермент;

МС – молочная смесь, условия которой имитируют процесс выработки;

П/п – сыры после пресса;

Модельные сыры – сыры выработанные в экспериментальных условиях ВНИИМС из молока, соответствующего требованиям безопасности и сыропригодности, по технологии сыра Голландского с использованием моновидовых культур МКМ.

Модельные молочные среды – 10 % стерильное восстановленное молоко, обогащённое теми или иными ингредиентами, используемыми либо для выработки сыра (молокосвертывающий ферментный препарат в дальнейшем МСФ), либо в процессе созревания (NaCl);

БГКП – бактерии группы кишечной палочки;

ВАВ – вкусоароматические вещества;

ЛВАВ – летучие вкусоароматические вещества;

ККТ – критическая контрольная точка;

$F_{эмп}$ – эмпирическое значение критерия Фишера;

$F_{кр}$ – критическое значение критерия Фишера;

p – уровень статистической достоверности оценки влияния фактора

Lc. lactis – *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*;

Lc. cremoris – *Lactococcus cremoris*;

Lc. diacetylactis – *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*;

Str. thermophilus – *Streptococcus thermophilus*;

Leuconostoc – *Leuconostoc* subsp.;

L. plantarum – *Lactiplantibacillus plantarum*;

L. casei – *Lacticaseibacillus casei*;

L. bulgaricus – *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*;

L. acidophilus – *Lactobacillus acidophilus*;

L. helveticus – *Lactobacillus helveticus*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. МакСуини, П.Л. Сыр. Научные основы и технологии [в 2 т]. Том 2: Технологии основных групп сыров / Под. ред П.Л. МакСуини, П.Ф.Фокс, П.Д. Коттер, Д.У. Эверетт [перевод с англ.]. – СПб.: ИД Профессия, 2019. – 572 с.
2. Slyvka, I. M. Strains of lactic acid bacteria isolated from traditional Carpathian cheeses / I.M. Slyvka, O.Y. Tsisaryk, G.V. Dronyk, L.Y Musiy // *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. – 2018. – Vol. 9. – №. 1. – P. 62-68.
3. Steele, J. Perspectives on the contribution of lactic acid bacteria to cheese flavor development / J. Steele, J. Broadbent, J. Kok // *Current Opinion in Biotechnology*. – 2013. – Vol. 24. – №. 2. – P. 135-141.
4. ГОСТ 32260-2013 Сыры полутвердые. Технические условия. – М: Стандартиформ, 2014.
5. Law, B. A. Controlled and accelerated cheese ripening: the research base for new technology / B.A. Law // *International Dairy Journal*. – 2001. – Vol. 11. – № 4–7. – P. 383-398.
6. Van den Berg, G. Technological parameters involved in cheese ripening /, G. Van den Berg, F.A. Exterkate // *International Dairy Journal*. – 1993. – Т. 3. – №. 4-6. – P. 485-507.
7. Gobbetti, M. Drivers that establish and assembly the lactic acid bacteria biota in cheeses / M. Gobbetti, R.Di Cagno, M. Calasso, E. Neviani, P.F. Fox., M.De Angelis // *Trends in Food Science & Technology*. – 2018. – Vol. 78. – P. 244-254.
8. Tilocca, B. Milk microbiota: Characterization methods and role in cheese production / B. Tilocca, N. Costanzo, V.M. Morittu, A.A. Spina, A. Soggiu, D. Britti, C. Piras // *Journal of Proteomics*. – 2020. – Vol. 210. – P. 103534.
9. Hayaloglu, A. A. Influence of starters on chemical, biochemical, and sensory changes in Turkish white-brined cheese during ripening / A.A. Hayaloglu, M. Guven, P.F. Fox, P.L.H. McSweeney // *Journal of Dairy Science*. – 2005. – Vol. 88. – №. 10. – P. 3460-3474.

10. Afshari, R. Cheesomics: the future pathway to understanding cheese flavour and quality / R. Afshari, C.J. Pillidge, D.A. Dias, A.M. Osborn, H. Gill, // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 2020. – Vol. 60. – №. 1. – P. 33-47.
11. Al-Otaibi, M. M. Effect of temperature and salton the maturation of white-salted cheese / M.M. Al-Otaibi, R.A. Wilbey // *International Journal of Dairy Technology*. – 2004. – № 57. – P.57-63.
12. Перфильев, Г. Д. Производство и применение бактериальных концентратов / Г.Д. Перфильев, Ю.Я. Свириденко // *Сыроделие и маслоделие*. – 2006. – № 3 – 24 с.
13. González, F. Functional bacterial cultures for dairy applications: Towards improving safety, quality, nutritional and health benefit aspects / F. Gonzalez, S. Delgado, L. Ruiz, A. Margolles, P. Ruas Madiedo // *Journal of Applied Microbiology*. – 2022. – Vol. 133. – №. 1. – P. 212-229.
14. Гудков. А. В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты / А.В. Гудков // М.: ДеЛи Принт, 2003. – 800 с.
15. Manno, M. T. Genetic and phenotypic features defining industrial relevant *Lactococcus lactis*, *L. cremoris* and *L. lactis biovar. diacetylactis* strains / M. T. Manno, F. Zuljan, S. Alarcon, L. Esteban, V. Blancato, M. Espariz, C. Magni // *Journal of Biotechnology*. – 2018. – Vol. 282. – P. 25-31.
16. Сорокина, Н. П. Обзор рынка бактериальных заквасок / Н.П. Сорокина // *Сыроделие и маслоделие*. – 2013. – №. 4. – С. 10-13.
17. Taibi, A. Comparative transcriptome analysis of *Lactococcus lactis subsp. cremoris* strains under conditions simulating Cheddar cheese manufacture / A. Taibi, N. Dabour, M. Lamoureux, D. Roy, G. LaPointe, // *International Journal of Food Microbiology*. – 2011. – Vol. 146. – №. 3. – P. 263-275.
18. Ruggirello, M. Fate of *Lactococcus lactis* starter cultures during late ripening in cheese models / M. Ruggirello, L. Cocolin, P. Dolci // *Food Microbiology*. – 2016. – Vol. 59. – P. 112-118.
19. Определитель бактерий Берджи. Девятое издание. В двух томах / Том 2. – М.: Мир. – 1997.

20. Aleksandrzyk-Piekarczyk, T. Lactose and β -glucosides metabolism and its regulation in *Lactococcus lactis*: a review / T. Aleksandrzyk-Piekarczyk // Lactic Acid Bacteria – for Food, Health and Livestock Purposes. – 2013. – Vol. 10. – P. 50889.
21. Cavanagh, D. From field to fermentation: the origins of *Lactococcus lactis* and its domestication to the dairy environment / D. Cavanagh, G. F. Fitzgerald, O. McAuliffe // Food Microbiology. – 2015. – Vol. 47. – P. 45-61.
22. Samarzhiya, D. Taxonomy, physiology and growth of *Lactococcus lactis*: a review / D. Samarzhiya, N. Antunats, Yu.L. Havranek // Mlekarstvo. – 2001. – Vol. 51. – №. 1. – P. 35-48.
23. Zeidan, A. A. Polysaccharide production by lactic acid bacteria: from genes to industrial applications / A.A. Zeidan, V.K. Poulsen, T. Janzen, P. Buldo, P. M. F. Derkx, G. Fregaard, A. R. Neves // FEMS Microbiology Reviews. – 2017. – Vol. 41. – №. 1. – P. 168-200.
24. Vos, W. M., Genetics of lactose utilization in lactic acid bacteria / W.M. Vos, E.E. Vaughan, // FEMS Microbiology Reviews. – 1994. – Vol. 15. – №. 2. – P. 217-237.
25. Rooijen, R. J. Molecular cloning, characterization, and nucleotide sequence of the tagatose 6-phosphate pathway gene cluster of the lactose operon of *Lactococcus lactis* / R.J. Rooijen, S. Schalkwijk, W.M. Vos // Journal of Biological Chemistry. – 1991. – Vol. 266. – №. 11. – C. 7176-7181.
26. Frey, P. A. The Leloir pathway: a mechanistic imperative for three enzymes to change the stereochemical configuration of a single carbon in galactose / P. A. Frey // The FASEB Journal. – 1996. – Vol. 10. – №. 4. – P. 461-470.
27. Neves, A. R. Towards enhanced galactose utilization by *Lactococcus lactis* / A.R. Neves, W.A. Pool, A. Solopova, J. Kok, H. Santos, O.P. Kuipers, // Applied and Environmental Microbiology. – 2010. – Vol. 76. – №. 21. – P. 7048-7060.
28. Martinussen, J. Engineering strategies aimed at control of acidification rate of lactic acid bacteria / J. Martinussen, C. Solem, A. K. Holm, P.R. Jensen // Current Opinion in Biotechnology. – 2013. – Vol. 24. – №. 2. – P. 124-129.
29. Iskandar, C. F. Review of lactose and galactose metabolism in Lactic Acid Bacteria dedicated to expert genomic annotation / C.F. Iskandar, C. Cailliez-Grimal, F.

Borges, A.-M. Revol-Junelles // Trends in Food Science & Technology. – 2019. – Vol. 88. – P. 121-132.

30. Solopova A. A Specific mutation in the promoter region of the silent cel cluster accounts for the appearance of lactose-utilizing *Lactococcus lactis* MG1363 / A.A. Solopova, H. Bachmann, B. Teusink, J. Kok, A.R. Neves, O.P. Kuipers // Applied and Environmental Microbiology. – 2012. – Vol. 78. – №. 16. – P. 5612-5621.

31. Wu, Q. Towards galactose accumulation in dairy foods fermented by conventional starter cultures: Challenges and strategies / Q. Wu, C.K.W. Cheung, N.P. Shah // Trends in Food Science & Technology. – 2015. – Vol. 41. – №. 1. – P. 24-36.

32. Yang, Y. Enzymatic perspective of galactosidases reveals variations in lactose metabolism among *Lactococcus lactis* strains / Y. Yang, N. Li, Y. Jiang, Z. Liu, X. Liu, J. Zhao, W. Chen // Journal of Dairy Science. – 2019. – Vol. 102. – №. 7. – P. 6027-6031.

33. Deng X. Y. et al. Galactosidase's biodiversity in lactose metabolism among *Lactococcus lactis* // Food and Fermentation Industries. – 2019. – Vol. 45. – №. 21. – P. 8-14.

34. Mena, B. Effect of Lactose on Acid Tolerance of Yogurt Culture Bacteria / B. Mena, K. Aryana // Food and Nutrition Sciences. – 2020. – Vol. 11. – №. 6. – P. 457-462.

35. Anbukkarasi, K. Assessment of expression of Leloir pathway genes in wild-type galactose-fermenting *Streptococcus thermophilus* by real-time PCR / K. Anbukkarasi, D. K. Nanda, T. Uma Maheswari, T. Hemalatha, P. Singh, R. Singh, // European Food Research and Technology. – 2014. – Vol. 239. – P. 895-903.

36. Xiong, Z. Q. Comparison of gal–lac operons in wild-type galactose-positive and-negative *Streptococcus thermophilus* by genomics and transcription analysis / Z.Q. Xiong, L.H. Kong, H.L. Meng, J.M. Cui, Y.J. Xia, S.J. Wang, L.Z. Ai // Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. – 2019. – Vol. 46. – №. 5. – P. 751-758.

37. Solopova, A. Further elucidation of galactose utilization in *Lactococcus lactis* MG1363 / A. Solopova, H. Bachmann, B. Teusink, J. Kok, O.P. Kuipers // Frontiers in Microbiology. – 2018. – Vol. 9. – P. 1803.

38. Gobbetti M. Pros and cons for using non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) as secondary/adjunct starters for cheese ripening / M. Gobbetti, M. De Angelis, R. Di Cagno, L. Mancini, P.F. Fox // *Trends in Food Science & Technology*. – 2015. – Vol. 45. – №. 2. – P. 167-178.
39. Sharma H. Impact of lactic acid bacteria and their metabolites on the techno-functional properties and health benefits of fermented dairy products / H. Sharma, F. Ozogul, E. Bartkiene, M. Rocha // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 2021. – P. 1-23.
40. Michel, V. *Streptococcus thermophilus* in Cheddar cheese—production and fate of galactose / V. Michel, F.G. Martley // *Journal of Dairy Research*. – 2001. – Vol. 68. – №. 2. – P. 317-325.
41. Wilkinson, M. G. Invited review: Starter lactic acid bacteria survival in cheese: New perspectives on cheese microbiology / M.G. Wilkinson, G. LaPointe // *Journal of Dairy Science*. – 2020. – Vol. 103. – №. 12. – P. 10963-10985.
42. Yanachkina, P. Effect of varying the salt and fat content in Cheddar cheese on aspects of the performance of a commercial starter culture preparation during ripening / P. Yanachkina, C. McCarthy, T. Guinee, M. Wilkinson // *International Journal of Food Microbiology*. – 2016. – Vol. 224. – P. 7-15.
43. Cavanagh, D. Evaluation of *Lactococcus lactis* isolates from nondairy sources with potential dairy applications reveals extensive phenotype-genotype disparity and implications for a revised species / D. Cavanagh, A. Casey, E. Altermann, P.D. Cotter, G.F. Fitzgerald, O. McAuliffe // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2015. – Vol. 81. – №. 12. – P. 3961-3972.
44. Poudel, R. Comparison of growth and survival of single strains of *Lactococcus lactis* and *Lactococcus cremoris* during Cheddar cheese manufacture / R. Poudel, R. K. Thunell, C.J. Oberg, S. Overbeck, M. Lefevre, T.S. Oberg, D.J. McMahon // *Journal of Dairy Science*. – 2022. – Vol. 105. – №. 3. – C. 2069-2081.
45. Ruggirello, M. Detection and viability of *Lactococcus lactis* throughout cheese ripening / M. Ruggirello, P. Dolci, L. Cocolin // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9. – №. 12. – P. 14280.

46. Børsting, M. W. Influence of proteolytic *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* on ripening of reduced-fat Cheddar cheese made with camel chymosin / M.W. Børsting, M.K. Stallknecht, F.K. Vogensen, Y. Ardö // International Dairy Journal. – 2015. – Vol. 41. – P. 38-45.
47. Broadbent, J. R. Conversion of *Lactococcus lactis* cell envelope proteinase specificity by partial allele exchange / J.R. Broadbent, B.T. Rodriguez, P. Joseph, E.A. Smith, J.L. Steele // Journal of Applied Microbiology. – 2006. – Vol. 100. – №. 6. – P. 1307-1317.
48. García-Cano, I. Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers of lipolytic, proteolytic and antibacterial proteins / I. García-Cano, D. Rocha-Mendoza, J. Ortega-Anaya, K. Wang, E. Kosmerl, R. Jimenez-Flores, // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2019. – Vol. 103. – P. 5243-5257.
49. Сорокина, Н. П. Производство ферментированных молочных продуктов и сыров: состав и свойства заквасочной микрофлоры / Н.П. Сорокина, И.В. Кучеренко // Молочная промышленность. – 2013. – № 7. – С. 38-40.
50. Hansen, E. B. Modeled structure of the cell envelope proteinase of *Lactococcus lactis* / E.B. Hansen, P. Marcatili // Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. – 2020. – Vol. 8. – P. 613986.
51. Yvon, M. The initial efficiency of the proteolytic system of *Lactococcus lactis* strains determines their responses to a cheese environment / M. Yvon, C. Gitton, E. Chambellon, G. Bergot, V. Monnet // International Dairy Journal. – 2011. – Vol. 21. – №. 5. – P. 335-345.
52. El-Ghaish, S. Screening of strains of lactococci isolated from Egyptian dairy products for their proteolytic activity / S. El-Ghaish, M. Dalgalarrodo, Y. Choiset, M. Sitohy, I. Ivanova, T. Haertlé, J. M. Chobert // Food Chemistry. – 2010. – Vol. 120. – №. 3. – P. 758-764.
53. Visser, S. Comparative study of action of cell wall proteinases from various strains of *Streptococcus cremoris* on bovine α 1-, β -, and κ -casein / S. Visser, F.A. Exterkate, C.J. Slangen, C.M. de Veer // Applied and Environmental Microbiology. – 1986. – Vol. 52. – №. 5. – P. 1162-1166.

54. Visser S., Specificity of a cell-envelope-located proteinase (P III-type) from *Lactococcus lactis subsp. cremoris* AM 1 in its action on bovine β -casein / S. Visser, A.J. Robben, C.J. Slangen // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 1991. – Vol. 35. – P. 477-483.
55. Kunji, E. R. S. The proteolytic systems of lactic acid bacteria / E.R.S. Kunji, I. Mierau, A. Hagting, B. Poolman, W.N. Konings, // *Antonie van Leeuwenhoek*. – 1996. – Vol. 70. – P. 187-221.
56. Juillard, V. The extracellular PI-type proteinase of *Lactococcus lactis* hydrolyzes beta-casein into more than one hundred different oligopeptides / V. Juillard, H. Laan, E.R. Kunji, C.M. Jeronimus-Stratingh, A.P. Bruins, W.N. Konings, // *Journal of Bacteriology*. – 1995. – Vol. 177. – №. 12. – P. 3472-3478.
57. Garbowska, M. Proteolytic and ACE-inhibitory activities of Dutch-type cheese models prepared with different strains of *Lactococcus lactis* / M. Garbowska, A. Pluta, A. Berthold-Pluta // *Food Bioscience*. – 2020. – Vol. 35. – P. 100604.
58. Boutrou, R. Simple tests for predicting the lytic behavior and proteolytic activity of lactococcal strains in cheese / R. Boutrou, A. Sepulchre, J.C. Gripon, V. Monnet // *Journal of Dairy Science*. – 1998. – Vol. 81. – №. 9. – P. 2321-2328.
59. Pritchard, G. G. The physiology and biochemistry of the proteolytic system in lactic acid bacteria / G.G. Pritchard, T. Coolbear // *FEMS Microbiology Reviews*. – 1993. – Vol. 12. – №. 1-3. – P. 179-206.
60. Savijoki, K. Proteolytic systems of lactic acid bacteria / K. Savijoki, H. Ingmer, P. Varmanen // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2006. – Vol. 71. – P. 394-406.
61. Kieliszek, M. Characteristics of the proteolytic enzymes produced by lactic acid bacteria / M. Kieliszek, K. Pobiega, K. Piwowarek, A.M. Kot // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26. – №. 7. – C. 1858.
62. Cheng, T. Technological characterization and antibacterial activity of *Lactococcus lactis subsp. cremoris* strains for potential use as starter culture for cheddar cheese manufacture / T. Cheng, L. Wan, G.Z. Guo, B. Li // *Food Science and Technology*. – 2022. – Vol. 42.

63. Сафонова, М. Е. Физиолого-биохимические свойства штаммов бактерий *Lactococcus lactis*, выделенных из природных источников / М.Е. Сафонова, И.А. Найденко, А.И. Буко // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук. – 2019. – 64. – №. 3. – С. 268-276.
64. Yerlikaya O. Probiotic potential and biochemical and technological properties of *Lactococcus lactis subsp. lactis* strains isolated from raw milk and kefir grains / O. Yerlikaya // Journal of Dairy Science. – 2019. – Vol. 102. – №. 1. – P. 124-134.
65. Katz, M. Esterolytic and lipolytic activities of lactic acid bacteria isolated from ewe's milk and cheese / M. Katz, R. Medina, S. Gonzalez, G. Oliver // Journal of Food Protection. – 2002. – Vol. 65. – №. 12. – P. 1997-2001.
66. Collins, Y. F. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge / Y.F. Collins, P.L.H McSweeney, M.G. Wilkinson // International Dairy Journal. – 2003. – Vol. 13. – №. 11. – P. 841-866.
67. Сорокина, Н. П. Бактериальные закваски для производства сыров / Н.П. Сорокина, Е.В. Кураева, И.В. Кучеренко // Сыроделие и маслоделие. – 2016. – №. 4. – С. 26-31.
68. Markakiou, S. Harnessing the metabolic potential of *Streptococcus thermophilus* for new biotechnological applications / S. Markakiou, P. Gaspar, E. Johansen, A.A. Zeidan, A.R. Neves // Current opinion in Biotechnology. – 2020. – Vol. 61. – P. 142-152.
69. Peralta, G. H. Disruption treatments on two strains of *Streptococcus thermophilus*: levels of lysis/permeabilisation of the cultures, and influence of treated cultures on the ripening profiles of Cremoso cheese / G.H. Peralta, C.V. Bergamini, E.R. Hynes // International Dairy Journal. – 2019. – Vol. 92. – P. 11-20.
70. Cui, Y. New insights into various production characteristics of *Streptococcus thermophilus* strains / Y. Cui, T. Xu, X. Qu, T. Hu, X. Jiang, C. Zhao // International Journal of Molecular Sciences. – 2016. – Vol. 17. – №. 10. – P. 1701.
71. Goh, Y. J. Specialized adaptation of a lactic acid bacterium to the milk environment: the comparative genomics of *Streptococcus thermophilus* LMD-9 / Y. Goh,

C. Goin, S. O'Flaherty, E. Altermann, R. Hutkins // *Microbial Cell Factories*. – BioMed Central, 2011. – Vol. 10. – №. 1. – P. 1-17.

72. Silva, L. F. Safety and technological application of autochthonous *Streptococcus thermophilus* cultures in the buffalo Mozzarella cheese / L.F. Silva, T.N. Sunakozawa, D.M.F. Amaral, T. Casella, J.De Dea Lindner, A.L. Barretto Penna // *Food Microbiology*. – 2020. – Vol. 87. – P. 103383.

73. Knight, G. C. Temperature step changes: a novel approach to control biofilms of *Streptococcus thermophilus* in a pilot plant-scale cheese-milk pasteurisation plant / G.C. Knight, R.S. Nicol, T.A. McMeekin // *International Journal of Food Microbiology*. – 2004. – Vol. 93. – №. 3. – P. 305-318.

74. Giraffa G. et al. Genotypic and phenotypic heterogeneity of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from dairy products / G. Giraffa, A. Paris, L. Valcavi, M. Gatti, E. Neviani // *Journal of Applied Microbiology*. – 2001. – Vol. 91. – №. 5. – P. 937-943.

75. Khadem, H. Ultrasound conditioning of *Streptococcus thermophilus* CNRZ 447: growth, biofilm formation, exopolysaccharide production, and cell membrane permeability / H. Khadem, A.M. Tirtouil, M.S. Drabo, B. Boubakeur // *BioTechnologia. Journal of Biotechnology Computational Biology and Bionanotechnology*. – 2020. – Vol. 101. – №. 2.

76. Fang, F. Antibacterial effect of silver nanofilm modified stainless steel surface / F. Fang, J. Kennedy, M. Dhillon, S. Flint // *International Journal of Modern Physics B*. – 2015. – Vol. 29. – №. 10n11. – P. 1540013.

77. Свириденко, Г. М. Межгосударственный стандарт ГОСТ 23454-2016 "Молоко. Методы определения ингибирующих веществ" / Г.М. Свириденко, М.Б. Захарова // *Переработка молока*. – 2017. – № 10. – С. 16-20.

78. Xu, Z. Exopolysaccharide produced by *Streptococcus thermophilus* S-3: Molecular, partial structural and rheological properties / Z. Xu, Q. Guo, H. Zhang, Y. Wu, X. Hang, L. Ai // *Carbohydrate Polymers*. – 2018. – Vol. 194. – P. 132-138.

79. Cui, Y. New advances in exopolysaccharides production of *Streptococcus thermophilus* / Y.Cui, J. Xu, M. Hao, X. Qu, T. Hu // Archives of Microbiology. – 2017. – Vol. 199. – P.799-809.
80. Surber, G. The Role of Exopolysaccharide-Producing *Streptococcus thermophilus* on Physical Properties of Stirred Skim Milk Gel / G. Surber, H. Rohm, D. Jaros // Dairy. – 2022. – Vol. 3. – №. 4. – P. 761-775.
81. Mastrigt O. Complete genome sequences of *Lactococcus lactis subsp. lactis* bv. *diacetylactis* FM03 and *Leuconostoc mesenteroides* FM06 isolated from cheese / O. Mastrigt, T. Abee, E. J. Smid // Genome Announcements. – 2017. – Vol. 5. – №. 28. – P. e00633-17.
82. Starr, M. P. (ed.). The prokaryotes: a handbook on habitats, isolation and identification of bacteria // Springer Science & Business Media, 2013.
83. Fusieger, A. The ability of *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis* strains in producing nisin / A. Fusieger, L.M. Perin, C.G. Teixeira, A.F. de Carvalho, L.A. Nero // Antonie Van Leeuwenhoek. – 2020. – Vol. 113. – №. 5. – P. 651-662.
84. Kelleher, P. Comparative and functional genomics of the *Lactococcus lactis* taxon; insights into evolution and niche adaptation / P. Kelleher, F. Bottacini, J. Mahony, K.N. Kilcawley, D. van Sinderen // BMC Genomics. – 2017. – Vol. 18. – №. 1. – P. 1-20.
85. Kelly, W. J. Chromosomal diversity in *Lactococcus lactis* and the origin of dairy starter cultures / W.J. Kelly, L.J.H. Ward, S.C. Leahy // Genome Biology and Evolution. – 2010. – Vol. 2. – P. 729-744.
86. Fusieger, A. et al. Technological properties of *Lactococcus lactis subsp. lactis* bv. *diacetylactis* obtained from dairy and non-dairy niches / A. Fusieger, M.C.F. Martins, R. de Freitas, L.A. Nero, A.F. de Carvalho // Brazilian Journal of Microbiology. – 2020. – Vol. 51. – P. 313-321.
87. Van Mastrigt, O. Citrate, low pH and amino acid limitation induce citrate utilization in *Lactococcus lactis biovar diacetylactis* / O. Van Mastrigt, E.E. Mager, C. Jamin, T. Abee, E.J. Smid // Microbial Biotechnology. – 2018. – Vol. 11. – №. 2. – P. 369-380.

88. Hernandez-Valdes, J. A. Enhancement of amino acid production and secretion by *Lactococcus lactis* using a droplet-based biosensing and selection system / J.A. Hernandez-Valdes, M. Stegge, J. Hermans, J. Teunis, // *Metabolic Engineering Communications*. – 2020. – Vol. 11. – P. 133.
89. Van Mastrigt, O. Quantitative physiology and aroma formation of a dairy *Lactococcus lactis* at near-zero growth rates / O. Van Mastrigt, T. Abee, S.K. Lillevang // *Food microbiology*. – 2018. – Vol. 73. – P. 216-226.
90. Pogacic, T. *Lactobacillus* and *Leuconostoc volatilomes* in cheese conditions / T. Pogacic, M.B. Maillard, A. Leclerc, C. Herve, V. Chuat, F. Valence, A. Thierry // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2016. – Vol. 100. – №. 5. – P. 2335-2346.
91. Vedamuthu, E. R. The dairy *Leuconostoc*: use in dairy products / E.R. Vedamuthu // *Journal of Dairy Science*. – 1994. – Vol. 77. – №. 9. – P. 2725-2737.
92. Hemme, D. *Leuconostoc* and Its Use in Dairy Technology / D. Hemme // *Handbook of Animal-Based Fermented Food and Beverage Technology*. – CRC Press, 2016. – P. 90-125.
93. Pedersen, T. B. Potential impact on cheese flavour of heterofermentative bacteria from starter cultures / B. Pedersen, D. Ristagno, P.L.H. McSweeney, F.K. Vogensen, Y. Ardo // *International Dairy Journal*. – 2013. – Vol. 33. – №. 2. – P. 112-119.
94. Arizcun C. Identification of lactic acid bacteria isolated from Roncal and Idiazabal cheeses / C. Arizcun, Y. Barcina, P. Torre // *Le Lait*. – 1997. – Vol. 77. – №. 6. – P. 729-736.
95. Shimkets L. J., Dworkin M., Reichenbach H. The myxobacteria, p 31–115 // *The Prokaryotes*. Springer. – New York: NY, 2006.
96. Mendes-Soares H. Comparative functional genomics of *Lactobacillus spp.* reveals possible mechanisms for specialization of vaginal lactobacilli to their environment / H. Mendes-Soares, H. Suzuki, R. J. Hickey, L. J. Forney // *Journal of Bacteriology*. – 2014. – Vol.196. – №. 7. – P. 1458-1470.

97. Singh, S. Phenotypic and genotypic characterization of non-starter *Lactobacillus* species diversity in Indian Cheddar cheese / S. Singh, R. Singh // *LWT-Food Science and Technology*. – 2014. – Vol. 55. – №. 2. – P. 415-420.
98. Leeuwendaal, N. The potential of non-starter lactic acid bacteria from Cheddar cheese to colonise the gut / N. Leeuwendaal, P. W O'Toole, T. P Beresford // *Journal of Functional Foods*. – 2021. – Vol. 83. – P. 104425.
99. Gobbetti, M. Pros and cons for using non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) as secondary/adjunct starters for cheese ripening / M. Gobbetti, M. De Angelis, R. Di Cagno, L. Mancini, P.F Fox // *Trends in Food Science & Technology*. – 2015. – Vol. 45. – №. 2. – P. 167-178.
100. Agarwal, S. Nonstarter lactic acid bacteria biofilms and calcium lactate crystals in Cheddar cheese / S. Agarwal, K. Sharma, B.G. Swanson, G.Ü. Yüksel, S. Clark // *Journal of Dairy Science*. – 2006. – Vol. 89. – №. 5. – P. 1452-1466.
101. Fira, D. Characterization of cell envelope-associated proteinases of thermophilic lactobacilli / Fira, M. Kojic, A. Banina, I. Spasojevic, I. Strahinic, L. Topisirovic // *Journal of Applied Microbiology*. – 2001. – Vol. 90. – №. 1. – P. 123-130.
102. Pescuma, M. Diversity in proteinase specificity of thermophilic lactobacilli as revealed by hydrolysis of dairy and vegetable proteins / M. Pescuma, M.B Espeche Turbay, F. Mozzi, G. Font de Valdez, G. Savoy de Gior, E.M. Hebert // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2013. – Vol. 97. – №. 17. – P. 7831-7844.
103. Ferrando, V. Resistance of functional *Lactobacillus plantarum* strains against food stress conditions / V. Ferrando, A. Quiberoni, J. Reinhemer, V. Suárez // *Food Microbiology*. – 2015. – Vol. 48. – P. 63-71.
104. Andrade-Velasques, A. Growth kinetic model, antioxidant and hypoglycemic effects at different temperatures of potential probiotic *Lactobacillus spp* / A. Andrade-Velasques, L. Dominguez-Cañedo, G. Melgar-Lalanne // *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. – 2021. – Vol. 20. – №. 1. – P. 37-49.
105. Reale, A. Tolerance of *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus rhamnosus* strains to stress factors encountered in food processing and in

the gastro-intestinal tract / A. Reale, T. Di Renzo, F. Rossi, T. Zotta, L. Iacumin, M. Preziuso, R. Coppola // *LWT-Food Science and Technology*. – 2015. – Vol. 60. – №. 2. – P. 721-728.

106. Jordan, K. N. Heat resistance of *Lactobacillus spp.* isolated from Cheddar cheese / K.N. Jordan, M. Cogan // *Letters in Applied Microbiology*. – 1999. – Vol. 29. – №. 2. – P. 136-140.

107. Widyastuti, Y. The role of lactic acid bacteria in milk fermentation / Y. Widyastuti, A. Febrisiantosa // *Food and Nutrition Sciences*. – 2014. – Vol. 4. – №. 5.

108. Moon, S. K. A novel lactic acid bacterium for the production of high purity *L-lactic acid*, *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* CHB2121 / S.K Moon, Y.J. Wee, G.W. Choi // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. – 2012. – Vol. 114. – №. 2. – P. 155-159.

109. Zalan, Z. Production of organic acids by *Lactobacillus* strains in three different media / Z. Zalan, J. Hudacek, J. Stetina, J. Chumchalova // *European Food Research and Technology*. – 2010. – Vol. 230. – №. 3. – P. 395-404.

110. Перфильев, Г. Д. Современная технология сыроделия и безотходная переработка молока / Г.Д. Перфильев, Г.Н. Рогов // *Материалы Всесоюзной научно - технической конференции*. – Ереван, 1989. – С. 457-458.

111. Квасников, Е. И. Молочнокислые бактерии и пути их использования / Е. И. Квасников, О.А. Нестеренко. – Издательство: Наука, 1975. – 390 с.

112. Dagdemir, E. Technological characterization of the natural lactic acid bacteria of artisanal Turkish White Pickled cheese / E. Dagdemir, S. Ozdemir // *International Journal of Dairy Technology*. – 2008. – Vol. 61. – №. 2. – P. 133-140.

113. Azizi, F. The biodiversity of *Lactobacillus spp.* from Iranian raw milk Motal cheese and antibacterial evaluation based on bacteriocin-encoding genes / F. Azizi, M.B. Habibi Najafi, M.R. Edalatian Dovom // *Amb Express*. – 2017. – Vol. 7. – №. 1. – P. 1-10.

114. Lima, E. T. Evaluation in vitro of the antagonistic substances produced by *Lactobacillus spp.* isolated from chickens / E.T. Lima, R.L. Andreatti Filho,

A.S. Okamoto// Canadian Journal of Veterinary Research. – 2007. – Vol. 71. – №. 2. – P. 103.

115. Mills, S. Inhibitory activity of *Lactobacillus plantarum* LMG P-26358 against *Listeria innocua* when used as an adjunct starter in the manufacture of cheese / S. Mills, L. Serrano, C. Griffin, P.M. O'Connor, G. Schaad, C. Bruining, W.C. Meijer // Microbial Cell Factories. – Bio. Med Central, 2011. – Vol. 10. – №. 1. – P. 1-11.

116. Перфильев Г. Д., Гудков А. В. Возбудители маслянокислого брожения в сырах и методы борьбы с ними // Обзорная информация. – ЦНИИТЭИММП. – 1981.

117. Свириденко, Г. М. Антагонистическая активность ацидофильной палочки в отношении споровых аэробных микроорганизмов род *Bacillus* / Г.М. Свириденко, М.Б. Захарова, Е.Е. Ускова // Сборник материалов Международной научно-практической конференции «Молоко, сыр, масло: проблемы и решения». – Углич, 2013. – С. 189-191.

118. Свириденко, Г. М. Влияние природы антагонистической активности ацидофильной палочки в отношении споровых аэробных микроорганизмов рода *Bacillus* / Г.М. Свириденко, М.Б. Захарова, Е.Е. Ускова, Е.С. Данилова // Сборник материалов Международной научно-практической конференции «Молоко, сыр, масло: проблемы и решения». – Углич, 2013. – С. 191-194.

119. Salminen, S. Probiotics: how should they be defined / Y. Benno, Y.K. Lee, S. Salminen, A. Ouwehand // Trends in Food Science & Technology. – 1999. – Vol. 10. – №. 3. – P. 107-110.

120. Fonseca, H. C. Probiotic properties of lactobacilli and their ability to inhibit the adhesion of enteropathogenic bacteria to Caco-2 and HT-29 cells / H.C. Fonseca, D. de Sousa Melo, C.L. Ramos // Probiotics and Antimicrobial Proteins. – 2021. – Vol. 13. – №. 1. – P. 102-112.

121. Milesi, M. M. Two strains of nonstarter lactobacilli increased the production of flavor compounds in soft cheeses / M.M. Milesi, I.V. Wolf, C.V. Bergamini, E.R. Hynes // Journal of Dairy Science. – 2010. – Vol. 93. – №. 11. – P. 5020-5031.

122. McSweeney, P. L. H. Biochemistry of cheese ripening / P.L.H. McSweeney // *International Journal of Dairy Technology*. – 2004. – Vol. 57. – №. 23. – P. 127-144.
123. Stefanovic, E. Strains of the *Lacticaseibacillus casei* group show diverse abilities for the production of flavor compounds in 2 model systems / E. Stefanovic, A. Thierry, M.B. Maillard, A. Bertuzzi // *Journal of Dairy Science*. – 2017. – Vol. 100. – №. 9. – P. 6918-6929.
124. Irlinger F., Helinck S., Jany J. L. Secondary and adjunct cultures // *Cheese*. – Academic Press, 2017. – P. 273 - 300.
125. Di Cagno, R. Accelerated ripening of Caciocavallo Pugliese cheese with attenuated adjuncts of selected nonstarter lactobacilli / R.Di Cagno, I. De Pasquale, M. De Angelis // *Journal of Dairy Science*. – 2012. – Vol. 95. – №. 9. – P. 4784-4795.
126. Calasso, M. Multiple microbial cell-free extracts improve the microbiological, biochemical and sensory features of ewes' milk cheese / M. Calasso, L. Mancini, M. De Angelis, A. Conte, C. Costa, M.A. Del Nobile, M. Gobbetti // *Food Microbiology*. – 2017. – Vol. 66. – P. 129-140.
127. Fenelon, M. A., Comparison of different bacterial culture systems for the production of reduced-fat Cheddar cheese / M.A. Fenelon, T.P. Beresford, T.P. Guinee // *International Journal of Dairy Technology*. – 2002. – Vol. 55. – №. 4. – P. 194-203.
128. Katsiari, M. C. Improvement of sensory quality of low-fat Kefalograviera-type cheese with commercial adjunct cultures / M.C. Katsiari, L.P. Voutsinas, E. Kondyli // *International Dairy Journal*. – 2002. – Vol. 12. – №. 9. – P. 757-764.
129. Gavrilova, N. Advanced biotechnology of specialized fermented milk products / Gavrilova, N. Chernopolskaya, M. Rebezov, D. Moisejkina, I. Dolmatova, I. Mironova, M. Derkho // *International Journal of Recent Technology and Engineering*. – 2019. – Vol. 8. – №. 2. – P. 2718-2722.
130. Johnson, M. E. Mesophilic and thermophilic cultures used in traditional cheesemaking / M.E. Johnson // *Cheese and Microbes*. – 2014. – P. 73-94.

131. Charlet, M. Multiple interactions between *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus delbrueckii* strongly affect their growth kinetics during the making of hard cooked cheeses / M. Charlet, G. Duboz, F. Faurie, J. L. Le Quéré, F. Berthier // *International Journal of Food Microbiology*. – 2009. – Vol. 131. – №. 1. – P. 10-19.
132. Ganesan B., Weimer B. C. Amino acid catabolism and its relationship to cheese flavor outcomes // *Cheese*. – Academic Press, 2017. – P. 483-516.
133. Fox, P. F. Starter cultures / P.F. Fox, T.P. Guinee, T.M. Cogan, P. L. McSweeney // *Fundamentals of Cheese Science*. – Springer, Boston, MA, 2017. – P. 121-183.
134. Richoux, R. Impact of the proteolysis due to lactobacilli on the stretchability of Swiss-type cheese / R. Richoux, L. Aubert, G. Roset, J. R. Kerjean // *Dairy Science and Technology*. – 2009. – Vol. 89. – №. 1. – P. 31-41.
135. Giraffa, G. Molecular diversity within *Lactobacillus helveticus* as revealed by genotypic characterization / G. Giraffa, M. Gatti, L. Rossetti, L. Senini, E. Neviani // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2000. – Vol. 66. – №. 4. – P. 1259-1265.
136. Naser, S. M. *Lactobacillus suntoryeus* Cachat and Priest is a later synonym of *Lactobacillus helveticus* (Orla-Jensen 1919) Bergey et al. 1925 (Approved Lists 1980) / S.M. Naser, K.E. Hagen, M. Vancanneyt, I. Cleenwerck, J. Swings, T.A. Tompkins // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 2006. – Vol. 56. – №. 2. – P. 355-360.
137. Callanan, M. Genome sequence of *Lactobacillus helveticus*, an organism distinguished by selective gene loss and insertion sequence element expansion / M. Callanan, P. Kaleta, J. O'Callaghan, O. O'Sullivan, K. Jordan, O. McAuliffe, R.P. Ross // *Journal of Bacteriology*. – 2008. – Vol. 190. – №. 2. – P. 727-735.
138. Rachid, M. Effect of milk fermented with a *Lactobacillus helveticus* R389 (+) proteolytic strain on the immune system and on the growth of 4T1 breast cancer cells in mice / M. Rachid, C. Matar, J. Duarte, G. Perdigon // *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. – 2006. – Vol. 47. – №. 2. – P. 242-253.

139. Giraffa, G. *Lactobacillus helveticus*: importance in food and health / G. Giraffa // *Frontiers in Microbiology*. – 2014. – Vol. 5. – P. 338.
140. Strahinic, I. Technological and probiotic potential of BGRA43 a natural isolate of *Lactobacillus helveticus* / I. Strahinic, J. Lozo, A. Terzic-Vidojevic, D. Fira, M. Kojic, N. Golic, L. Topisirovic // *Frontiers in Microbiology*. – 2013. – Vol. 4. – P. 2.
141. Taverniti, V. Health-promoting properties of *Lactobacillus helveticus* / V. Taverniti, S. Guglielmetti // *Frontiers in Microbiology*. – 2012. – Vol. 3. – C. 392.
142. Cremonesi, P. Genome sequence and analysis of *Lactobacillus helveticus* / P. Cremonesi, S. Chessa, B. Castiglioni // *Frontiers in Microbiology*. – 2013. – Vol. 3. – P. 435.
143. Begunova, A. V. Development of antioxidant and antihypertensive properties during growth of *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus reuteri* on cow's milk: Fermentation and peptidomics study / A.V. Begunova // *Foods*. – 2020. – Vol. 10. – №. 1. – P. 17.
144. Уманский М.С. Селективный липолиз в биотехнологии сыра / М.С. Уманский. – Барнаул, 2000. – 245 с.
145. ГОСТ 34372-2017 Закваски бактериальные для производства молочной продукции Технические условия. – М: Стандартинформ, 2018.
146. Zurari A., Accolas J., Demaso M. J. Metabolism and biochemical characteristics of yoghurt bacteria. Review // *Le lait*. – 1992. – Т. 72. – №. 1. – P. 1-34.
Королева, Н. С., Симбиотические закваски термофильных бактерий в производстве кисломолочных продуктов / Н.С. Королева, М.С. Кондрашенко. – М.: Пищевая промышленность, 1978. – 168 с.
147. Guarner, F. Should yoghurt cultures be considered probiotic? / F. Guarner, G. Perdigon, G. Corthier, S. Salminen, B. Koletzko, L. Morelli // *British Journal of Nutrition*. – 2005. – Vol. 93. – №. 6. – P. 783-786.
148. Guglielmotti, D. M. Probiotic potential of *Lactobacillus delbrueckii* strains and their phage resistant mutants / D.M. Guglielmotti, M.B.M. Marcó, Golowczyc, J.A. Reinheimer, A.D.L Quiberoni // *International Dairy Journal*. – 2007. – Vol. 17. – №. 8. – P. 916-925.

149. Abedi, D. In vitro anti-bacterial and anti-adherence effects of *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* on Escherichia coli / D. Abedi, S. Feizizadeh, V. Akbari, A. Jafarian-Dehkordi // Research in Pharmaceutical Sciences. – 2013. – Vol. 8. – №. 4. – P. 261-268.
150. Joghataei, M. Probiotic potential comparison of *Lactobacillus* strains isolated from Iranian traditional food products and human feces with standard probiotic strains / M. Joghataei // Journal of the Science of Food and Agriculture. – 2019. – Vol. 99. – №. 15. – P. 6680-6688.
151. Бахнова, Н. В. Бактериальные концентраты для производства продуктов функционального назначения / Н.В. Бахнова // Матер. науч.-практ. конф. – Адлер, 2007. – С. 114 -117.
152. Vantsawa, P. A., Isolation and identification of lactic acid bacteria with probiotic potential from fermented cow milk (nono) in Unguwar Rimi Kaduna State Nigeria / P.A. Vantsawa, U.T. Maryah, T. Bulus // American Journal of Molecular Biology. – 2017. – Vol. 7. – №. 2. – P. 99-106.
153. Pathak, A. Isolation and identification of antagonistic *Lactobacillus acidophilus* from curd / A. Pathak, N. Dutta // International Journal Science Res. Publ. – 2016. – Vol. 6. – P. 514-519.
154. Habib. K. A. The Inhibitory Effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum* against *Candida albicans* Associated with Denture Stomatitis / S.M. Farhan, K.A. Habib // Baghdad Science Journal. – 2015. – Vol. 12. – №. 3.
155. Лилишенцева, А. Н. Определение критериев выбора потребителями сыров / А.Н. Лилишенцева, Т.А. Заболоцкая, Е.А. Давыдова // Научные труды Белорусского государственного экономического университета / М-во образования Респ. Беларусь, Белорусский гос. экон. ун-т; [редкол.: В. Н. Шимов (гл. ред.)]. – Минск: БГЭУ, 2016. – Вып. 9. – С. 188-193.
156. ГОСТ 33630-2015 Сыры и сыры плавленые. Методы контроля органолептических показателей – М: Стандартиформ, 2015.

ФГБОУ ВО Вологодская ГМХА
 ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт
 молочной промышленности»
 ФГБНУ "ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова" РАН
 ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»



Диплом

III степени

конкурса научно-исследовательских работ
 в сфере молочной отрасли
 в номинации «Аспиранты и молодые ученые»
 награждается

Шухалова О.М.

Ректор
 ФГБОУ ВО Вологодская ГМХА

[Signature]
 Н.Г. Малков

Директор ФГАНУ «ВНИМИ»

[Signature]
 А.Г. Галстян

Директор ВНИИМС - филиал
 ФГБНУ "ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова" РАН

[Signature]
 Е.В. Топникова

Декан факультета пищевой инженерии и биотехнологий
 ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

[Signature]
 Н.П. Оботурова

г. Вологда
 28 октября 2021 года



ДИПЛОМ

НАГРАЖДАЕТСЯ

**Шухалова Ольга
Михайловна**

ЗА ПЕРСПЕКТИВНОЕ НАПРАВЛЕНИЕ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ
В РАМКАХ XV МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
МОЛОДЫХ УЧЁНЫХ И СПЕЦИАЛИСТОВ

**<<АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ И СОВРЕМЕННЫЕ
РЕШЕНИЯ В ОБЛАСТИ ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ>>**

Директор
ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем
им. В.М. Горбатова» РАН

О.А. Кузнецова

ФГБНУ «ФНЦ ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ ИМ. В.М. ГОРБАТОВА» РАН

20-22 СЕНТЯБРЯ 2022
МОСКВА

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ
им. В.М. ГОРБАТОВА» РАН

ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ МАСЛОДЕЛИЯ И СЫРОДЕЛИЯ –
ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ им. В.М. ГОРБАТОВА» РАН
(ВНИИМС – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН)

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

**общие и специфические требования к бактериальным
закваскам с учетом состава микрофлоры, количества
жизнеспособных клеток, физического состояния и
особенностей технологии производства сыров**

МП 021–2023

**Углич
2023**

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ
им. В.М. ГОРБАТОВА» РАН

ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ МАСЛОДЕЛИЯ И СЫРОДЕЛИЯ –
ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ им. В.М. ГОРБАТОВА» РАН
(ВНИИМС – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН)

УТВЕРЖДАЮ

Директор ВНИИМС

Е.В. Топникова

28 апреля 2023 г.



МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

**общие и специфические требования к бактериальным
закваскам с учетом состава микрофлоры, количества
жизнеспособных клеток, физического состояния и
особенностей технологии производства сыров**

Дата введения в действие – 15.05.2023 г.

РАЗРАБОТАНО

ВНИИМС

Ведущий научный сотрудник,
руководитель отдела микробиологии

 Г.М. Свириденко

Младший научный сотрудник
отдела микробиологии

 О.М. Шухалова

Младший научный сотрудник
отдела микробиологии

 Д.С. Мамыкин