А. В. Гудков

СЫРОДЕЛИЕ:
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ, БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Под редакцией
С. А. Гудкова

2-е издание, дополненное
и исправленное

Москва
ДеЛи принт
2004

УДК 637.1/.3
ББК 36.95
Г93

Рецензенты:
Руководитель научного направления
«Современные достижения биотехнологии продуктов питания»
Северо-Кавказского Государственного технического университета,
академик Российской академии сельскохозяйственных наук *А. Г. Храмцов*
Заведующий кафедрой «Прикладная биотехнология»,
проф., докт. техн. наук *И. А. Евдокимов*
Профессор кафедры «Прикладная биотехнология»,
докт. техн. наук *А. В. Оноприйко*

Материал подготовили: введение – С. А. Гудков; главы 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11 – А. В. Гудков, С. А. Гудков; главы 4, 6, 8, 10, 12, 13, 14 – А. В. Гудков; в главе 12 использованы материалы, написанные совместно А. В. Гудковым и В. Н. Алексеевым.

Гудков А. В.

Г93 Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты / Под редакцией С. А. Гудкова, 2-е изд., испр. и доп. – М.: ДеЛи принт, 2004. – 804 с.

ISBN 5-94343-071-7

Данная монография крупного ученого, доктора технических наук А. В. Гудкова посвящена одному из самых сложных пищевых производств – сыроделию. В монографии даны современные представления о биотехнологии сыров, подробно изложены все этапы производства: от гигиены производства молока до созревания сыров, рассмотрены вопросы качества и пороков сыра, показано значение сыра в питании человека. Детально проанализированы микробиологические, биохимические и физико-химические процессы, происходящие при выработке и созревании сыра.

Книга предназначена для специалистов сыродельной отрасли, научных сотрудников и преподавателей курса сыроделия.

УДК 637.1/.3
ББК 36.95
© Гудков С. А., 2004
© ООО «ДеЛи принт», 2004

ISBN 5-94343-071-7

ПРЕДИСЛОВИЕ

Сыроделие возникло за 6000–8000 лет до Рождества Христова. Несмотря на столь большой «рабочий стаж», оно остается самым сложным из пищевых производств. Сложность сыроделия заключается в том, что оно включает тесно взаимосвязанные и взаимозависимые физические, химические и биологические факторы, причем биологические факторы (молоко, молокосвертывающие энзимы, микроорганизмы) сильно варьируют и характер их изменений не всегда может быть своевременно выявлен и учтен сыроделом. Длительное время сыроделие считали не ремеслом, а своеобразным искусством. Однако успехи естественных наук вообще, и науки о молоке в частности, постепенно переводят сыроделие на научные рельсы.

В руководствах по сыроделию, программах обучения обычно курс сыроделия разделяют на химию и физику (технологию), микробиологию и биохимию. На самом деле все факторы находятся в тесной зависимости друг от друга. Так, изменение формы и массы головки сыра, являющееся чисто технологической операцией, влияет на скорость охлаждения сырной массы и диффузию соли внутрь головки сыра, что в свою очередь оказывает большое влияние на микробиологические и биохимические процессы, от которых зависят химический состав, реологические показатели и качество сыра в целом. Сыры являются своеобразной экологической системой, обладающей определенной стабильностью, что дало возможность их вырабатывать задолго до того, как человек узнал о существовании микробов, необходимых в производстве любого сыра. К сожалению, стабильность этой системы недостаточна, что ведет к выработке сыров с различными дефектами.

Настоящая работа, по-видимому, является первой в нашей стране попыткой сформулировать научные основы сыроделия с учетом физических, химических, микробиологических и биохимических факторов в совокупности, т. е. рассматривая сыры как единый «живой» организм. В основу этой работы были положены блестящий анализ микробиологических процессов в сырах, данный С. А. Королевым, монографии И. И. Климовского, К. К. Горбатовой, работы ведущих сыроделов страны В. Н. Алексеева, А. П. Белоусова, З. Х. Диланяна, А. И. Чеботарева, двухтомная монография «Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology», подготовленная коллективом ведущих ученых в области сыроделия и изданная в 80–90 гг. за рубежом, большое количество публикаций отечественных и зарубежных авторов в периодических изданиях, результаты собственных исследований авторов и их учеников. Не на все вопросы, стоящие перед сыроделами, даны ответы, так как наукой изучены далеко не все процессы, происходящие в сыре, но будет хорошо, если собранный и систематизированный материал поможет читателям правильно выбрать предмет и направление собственных исследований.

В отечественной литературе по сыроделию описывается технология только отечественных сыров. В данной монографии параллельно описываются отечественные и зарубежные сыры соответствующих классов, дается сравнительный анализ отечественной и зарубежной технологии, причины существующих различий, которые чаще всего обусловлены различиями состава и свойств перерабатываемого молока.

Книга предназначена для научных работников, преподавателей, а также специалистов сыродельных заводов. Мы надеемся, что она будет полезна и для мастеров-сыроделов.

Главы 1, 2, 3, 5, 7, 9 и 11 написаны совместно А. В. Гудковым (ВНИИ маслоделия и сыроделия) и С. А. Гудковым (Российская академия сельскохозяйственных наук); в главе 12 использованы материалы, написанные совместно А. В. Гудковым и В. Н. Алексеевым (ВНИИ маслоделия и сыроделия). Общая редакция и подготовка всех материалов к опубликованию осуществлена С. А. Гудковым.

С. А. Гудков

ГЛАВА 1

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА, ИСТОРИЯ СЫРОДЕЛИЯ

1.1. Определение сыра. Основные элементы производства

В толковом словаре Даля слово «сыр» помещено в семейство, коренным в котором является слово «сырой», имеющее два основных значения: «мокрый» и «невареный». По-видимому, от второго значения и произошло слово «сыр», так как сыры в давние времена вырабатывали из сырого молока с участием естественной микрофлоры и в пищу они обычно употребляются без какой-либо кулинарной обработки. Слово «сыворотка» (на украинском «сироватка»), возможно, является сокращением слов «сырная вода», т. е. жидкая часть молока, остающаяся после выработки сыра и творога (в мировой практике творог относят к сырам).

Английское название сыра «cheese», немецкое «Käse» произошли от латинского «caseus», также означающее сыр и творог. От этого же корня произошло название главного белка молока – казеина, коагуляция которого лежит в основе производства любого сыра. Латинское происхождение английского и немецкого названий сыра позволяет предположить, что в этих странах сыроделие (по крайней мере, производство сычужных сыров), началось после их завоевания Римской империей. Описание технологии сыра в Британии в IV в. нашей эры показывает, что она была идентичной описанной древнеримскими авторами до Рождества Христова [325]. Однако археологические исследования свидетельствуют о том, что сыры в Британии (по-видимому, кисломолочные) вырабатывали и до ее завоевания римлянами.

Французское название сыра «fromage» происходит от слова «форма», что указывает на наличие у сыров определенной формы в отличие от жидких ферментированных молочных продуктов. Форма и размеры головок сыров – не только чисто внешние признаки, присущие тому или иному виду сыра; они оказывают существенное влияние на его физико-химические, микробиологические, а, следовательно, и органолептические показатели.

Название казеина одинаково на разных языках. Это понятно, так как оно появилось после возникновения и определенного развития науки о молоке, когда уже существовал достаточно широкий обмен научной информацией и происходила унификация научных терминов. Разное происхождение названий сыра на разных языках в какой-то мере свидетельствует о независимом и достаточно древнем появлении сыров в разных странах, в т. ч. и в России.

В каталоге Международной молочной федерации описано около 500, в литературе упоминается до 5000 видов сыров [132, 527]. Сыры отличаются друг от друга формой и размерами головки, химическим составом, органолептическими свойствами, технологией, что крайне затрудняет общее определение сыров. В кратком Оксфордском толковом словаре английского языка дано следующее определение сыра: «сгусток молока, получаемый под воздействием сычужного энзима, отделенный от сыворотки и спрессованный в твердую массу». Это определение не раскрывает сущности сыров, поскольку по органолептическим показателям большинство сыров резко отличается от свежего молочного сгустка, и не охватывает все многообразие сыров.

Davis дает более развернутое определение: «Сыр – это сгусток или вещество, получаемое коагуляцией молока определенных млекопитающих сычужным или подобными ему энзимами в присутствии молочной кислоты, образуемой вносимыми или имеющимися в молоке микроорганизмами, из которого часть влаги удаляют путем его разрезания, нагревания и/или прессования, после чего он помещается в формы, затем созревает путем выдержки в течение определенного времени при благоприятной температуре и влажности» [221]. Многие сыры не соответствуют и этому определению.

В Общем стандарте, прилагаемом к Кодексу принципов, касающихся молока и молочных продуктов (ФАО/ВОЗ), дано следующее определение сыра: «Сыр представляет собой свежий или прошедший созревание продукт твердой или полутвердой консистенции, получаемый:

а) путем свертывания отдельно или в виде смеси молока, обезжиренного молока, частично обезжиренного молока, сливок, полученных из молочной сыворотки или пахты с помощью сычужного энзима или других молокосвертывающих энзимов с последующим частичным удалением молочной сыворотки, образующейся в результате этого свертывания;

б) с использованием технологий, обеспечивающих свертывание молока и/или веществ, являющихся производными молока, с тем чтобы получить готовый продукт, основные физические, химические и органолептические характеристики которого идентичны характеристикам продукта, описанного в параграфе а) Стандарта» [1593].

Это определение достаточно для целей идентификации, но оно не раскрывает функционального назначения и движущих сил процессов производства сыров и тесно связано с Общим стандартом.

Нами предлагается следующее определение сыров:

Сыры – это пищевые продукты, получаемые путем концентрирования и биотрансформации основных компонентов молока под воздействием энзимов, микроорганизмов и физико-химических факторов; производство сыров включает коагуляцию молока, отделение сырной массы от сыворотки, формование, прессование под действием внешних нагрузок или собственного веса, посолку, а употребление в пищу производится сразу после выработки (в све-

жем виде) или после созревания (выдержки) при определенной температуре и влажности в анаэробных или аэробных условиях.

От молока сыры отличаются высоким содержанием сухих веществ, что очень важно для их транспортировки и хранения, стойкостью в хранении и широким спектром органолептических показателей, удовлетворяющих любые вкусы потребителей.

Сыры, вырабатываемые с применением энзиматической коагуляции молока, называются сычужными. В категорию сыров кроме сычужных входят кисломолочные сыры, вырабатываемые без участия молокосвертывающих энзимов, с кислотной коагуляцией молока, и плавленые сыры, вырабатываемые не из молока, а из сычужных сыров и/или творога. В настоящей работе плавленые сыры не рассматриваются. Сычужные и кисломолочные сыры, в отличие от плавленых, часто называют *натуральными*, хотя это неправильно, так как все сыры вырабатывают из натурального сырья.

Определение сычужных сыров включает четыре необходимых элемента их производства: молоко; молокосвертывающие и другие энзимы, вносимые в молоко или непосредственно в сырную массу; микроорганизмы и физико-химические воздействия на молоко и сырную массу. Совокупность последних составляет *технологию*, а совокупность всех элементов – *биотехнологию* сыра. Кратко охарактеризуем составные элементы производства сычужных сыров.

Молоко. Для выработки сыров используют коровье, козье, овечье, буйволиное молоко или смеси молока от разных животных. В древних источниках (Гиппократ, Аристотель) сообщается об использовании для производства сыра также кобыльего и ослиного молока.

Энзимы. Основополагающей операцией в производстве сычужных сыров является энзиматическое свертывание молока, в результате которого образуется сгусток, содержащий большую часть казеина и жира молока. Тысячелетиями для свертывания молока в сыроделии использовали *сычужный энзим (химозин)*, образующийся в сычуге – четвертом отделе желудка молодняка млекопитающих молочного периода. В организме животных он выполняет ту же функцию, что и в сыроделии – свертывает молоко, что является началом его переваривания. Этот факт свидетельствует о том, что переработка молока при производстве сыра соответствует естественным процессам, протекающим при переваривании молока в организме.

Второй функцией энзимов в производстве сыров является участие в биотрансформации компонентов молока в соединения, формирующие органолептические показатели продукта.

В настоящее время, в связи с дефицитом сычужного энзима из-за нецелесообразности забоя молодняка в молочный период жизни и снижения количества скота при резком возрастании его продуктивности, широко используются другие энзимы, близкие по действию к сычужному: пепсины, энзимы, продуцируемые некоторыми микроорганизмами.

Разработаны методы генной инженерии, позволяющие включать гены, осуществляющие синтез сычужного энзима, в геномы микроорганизмов, и тем самым осуществлять синтез сычужного энзима микроорганизмами. Сычужный энзим, полученный методами генной инженерии, уже вырабатывается и применяется в промышленных масштабах.

Коагуляция молока под действием сычужного энзима получила название *«сычужное свертывание»*. В настоящей работе это название сохранено для коагуляции молока всеми энзимами, применяемыми для этой цели, поскольку способ их действия при свертывании молока принципиально не отличается от способа действия сычужного энзима. В принципе любой протеолитический энзим может коагулировать молоко, но если по способу действия он сильно отличается от сычужного энзима, то при его использовании в сыроделии для свертывания молока снижается выход и ухудшаются органолептические показатели продукта. По этой причине крайне ограниченно используют молокосвертывающие энзимы растительного происхождения. В Европе только португальский сыр Сиера вырабатывают с энзимом растительного происхождения (образуемым растениями из рода *Cynara*) [325]. Растительные энзимы используются для выработки сыров в некоторых африканских странах.

Кроме молокосвертывающих энзимов, в производстве некоторых сыров применяют липазы и протеазы для ускорения формирования и усиления выраженности сырного вкуса и аромата. Определенную роль в производстве сыров, особенно крупных, играют природные энзимы молока, в частности плазмин.

Микроорганизмы. Микрофлору сыра можно подразделить на *необходимую для их производства и постороннюю*. В производстве любого сычужного сыра применяют молочнокислые бактерии. Они играют главную роль в биотрансформации компонентов молока в вещества, формирующие органолептические показатели сыров, создают условия, подавляющие или ингибирующие размножение в молоке и сырах посторонней микрофлоры. В производстве кисломолочных сыров молочнокислые бактерии выполняют и функцию свертывания молока за счет образования органических кислот. При снижении pH до изоэлектрической точки казеина молоко свертывается. Энзимы для коагуляции молока при выработке кисломолочных сыров не применяют или применяют в малых дозах, недостаточных для свертывания молока. При кислотной коагуляции молоко свертывается при pH 4,6, при кислотно-сычужной – при pH 5,0–5,2, при сычужной – при pH 6,5–6,6. Кислотная коагуляция молока принципиально отличается от сычужной: при кислотной коагуляции мицеллы казеина теряют стабильность в результате исчезновения поверхностного заряда в изоэлектрической точке, при сычужной теряется стерическая устойчивость мицеллы в результате расщепления $\varkappa$-казеина. При кислотной коагуляции из мицеллы казеина выходит коллоидный фосфат кальция, обусловливающий межмицеллярные свя-

зи, что приводит к радикальному изменению структуры кислотного сгустка и кисломолочных сыров (гл. 2). Зависимость pH сгустка и начального pH сыра от типа свертывания молока определяет характер биохимических и микробиологических процессов в сыре, его органолептические показатели.

Кроме молочнокислых бактерий в производстве отдельных групп сыров принимают участие пропионовокислые бактерии, плесневые грибы, ассоциация аэробных микроорганизмов, получившая название *«сырная слизь»*. Все эти микроорганизмы в дальнейшем будут называться *«необходимой микрофлорой»*.

Под *вредной микрофлорой* понимаются микроорганизмы, попадающие в сыр помимо воли сыродела и ухудшающие органолептические показатели или показатели безопасности сыра. Микроорганизмы, ухудшающие органолептические показатели, в дальнейшем будут называться *«технически вредной микрофлорой»*, снижающие показатели безопасности – *«патогенными микроорганизмами»*.

Препараты молочнокислых бактерий для производства сыра называют *«закваскаМи»* (в толковом словаре Даля также приводится название «сквасье», сейчас вышедшее из употребления).

Технология. Основные технологические операции производства сычужных сыров приведены в табл. 1.1. В производстве отдельных групп сыров используются не все указанные в таблице операции. Так, существуют сыры, созревающие с поверхности, на которой должны размножаться определенные представители необходимой микрофлоры (микрофлора сырной слизи или плесневые грибы), поэтому ни в каких покрытиях они не нуждаются. Мягкие сыры, имеющие повышенное содержание влаги, не требуют прессования под воздействием внешних нагрузок; уплотнение сырной массы у них идет за счет собственного веса (самопрессование). Для сыров, созревающих в пленке, нет необходимости в наведении корки.

Основные типовые технологические схемы производства сыров приведены в технологических инструкциях.

1.2. Возникновение и развитие сыроделия

Человек приручил домашних животных за 8000–10000 лет до Рождества Христова (РХ) [325]. Одной из целей приручения было получение постоянного источника молока. В ведийских гимнах (Индия), например, за 3000–2000 лет до РХ проповедовалось, что забой коров на мясо – грех; коров нужно держать для получения молока [221]. Корова признавалась священным животным и у славян. Именно молоко люди считают носителем жизни, о чем свидетельствует то, что вселенную они назвали «галактика»: от греческого «gala» – молоко, а главную небесную «дорогу» – «Млечным Путем».

1.1. Основные стадии производства сычужных сыров

Стадии производства	Назначение
1. Получение молока (М)	
1.1. Очистка от примесей	Освобождение от механических загрязнений
1.2. Охлаждение	Предотвращение размножения бактерий
1.3. Резервирование	Накопление партий для транспортировки на завод, обеспечение поточности производства
1.4. Транспортировка	Доставка молока на заводы
2. Подготовка М	
2.1. Созревание	Подготовка М как субстрата для молокосвертывающих энзимов и среды для размножения молочнокислых бактерий
2.2. Нормализация	Обеспечение рационального использования казеина и молочного жира
2.3. Очистка М от патогенной и технически вредной микрофлоры (пастеризация, бактофугирование и др.)	Предотвращение микробиологической порчи и желудочно-кишечных заболеваний, вызванных потреблением некачественных продуктов
2.4. Внесение $CaCl_2$	Улучшение сычужной свертываемости
2.5. Внесение селитры	Ингибирование развития в сырах энтеробактерий и маслянокислых бактерий
2.6. Приготовление и внесение заквасок и бакпрепаратов	Формирование органолептических показателей сыра и ингибирование развития вредной микрофлоры
3. Свертывание М	Концентрирование казеина и молочного жира
4. Постановка и обработка зерна	Удаление сыворотки из сгустка, накопление биомассы лактобактерий, сбраживание лактозы
5. Формование	Придание сырной массе формы и размеров
6. Прессование	Удаление остатков сыворотки, замыкание поверхности головки сыра
7. Посолка	Формирование органолептических показателей, регулирование микробиологических и биохимических процессов
8. Подготовка к нанесению покрытий и созреванию	Мойка, обсушка, наведение корки, обработка фунгицидными препаратами
9. Покрытие сплавами, латексами, упаковка в пленки	Создание анаэробных условий для подавления роста вредной микрофлоры на поверхности сыра
10. Созревание сыра	Формирование органолептических показателей
11. Упаковка головок	Предотвращение загрязнения и деформации

Однако молоко обладает большим недостатком: его нельзя хранить в натуральном виде, поскольку оно быстро портится в результате жизнедеятельности микроорганизмов. В природе молоко не попадает во внешнюю среду, поскольку из организма матери оно сразу поступает в пище-

варительный тракт детенышей. Поэтому в природе молоко нуждается только в кратковременной защите от микроорганизмов, пока оно находится в вымени, куда микроорганизмы могут попадать из внешней среды через сосковые каналы. Для кратковременной защиты от порчи в молоке в процессе эволюции сформировались природные системы, обусловливающие так называемую бактерицидную фазу (разд. 7.2.10). После того, как человек стал использовать молоко не по прямому назначению, сразу возникла необходимость его защиты от микроорганизмов.

Первым способом консервирования продуктов питания, очевидно, было высушивание. Но молоко, в отличие от мяса, фруктов и овощей, нельзя высушить на солнце, поэтому, не использованное сразу после выдаивания, оно неизбежно становилось добычей микроорганизмов. Быстрее всего к молоку как новой экологической нише приспособились молочнокислые бактерии, использующие в качестве источника энергии лактозу. В молочнокислых бактериях, сбраживающих лактозу преимущественно до молочной кислоты, человек приобрел союзника, так как они минимально снижают его питательную ценность, а свернутое молочнокислыми бактериями молоко обладает хорошими органолептическими и диетическими показателями и значительно более стойко по отношению к другим микроорганизмам.

Кислотный сгусток в процессе разрезки, перемешивания, нагревания, прессования или самопрессования выделяет сыворотку, в результате получается творог, который не только более стоек в хранении, чем молоко, но и содержит больше сухих веществ, что было очень важно для скотоводов, кочующих со своими стадами. Творог, вероятно, и был первым сыром. По Далю, слово «сыр» обозначает и творог, а на украинском языке творог и сейчас называется сыром.

К открытию сычужного свертывания молока, по-видимому, привела практика хранения и транспортировки его в мешках, изготовленных из желудков млекопитающих, на стенках которых могли оставаться химозин или пепсин. Люди не могли не заметить, что в таких мешках молоко свертывается, не будучи кислым. С этого наблюдения и началась история сыроделия.

В древние времена была открыта способность многих растительных субстратов свертывать молоко. Известно, что уже в Римской империи они широко использовались для изготовления сыров. Вероятно, этому открытию способствовало широкое применение растительных добавок для разнообразия органолептических показателей молочных продуктов.

Сычужные сгустки молока, в отличие от кислотных, лучше отдают сыворотку, что позволяет получить массу с более низким содержанием влаги, более удобную для хранения и транспортировки. Вторым важнейшим отличием сычужного сгустка является более низкая кислотность, что создает более благоприятные условия для биотрансформации компонентов молока, особенно казеина, во вкусовые и органолептические соединения сыра под действием энзимов. Это сразу же расширяет

спектр органолептических показателей сыров по сравнению с творогом. Протеолитические процессы в сычужном сгустке позволяют получить достаточно пластичную консистенцию даже при низком содержании влаги, что невозможно в продуктах из кислотного сгустка.

Таким образом, сыроделие, скорее всего, появилось как способ консервирования молока, а в настоящее время сыры превратились в ценнейшие продукты питания.

Более низкая кислотность сычужных сыров по сравнению с кисломолочными, наряду с огромными преимуществами имеет и существенный недостаток – стойкость в хранении сычужных сыров при комнатной температуре намного ниже, чем кисломолочных. Сейчас их стойкость обеспечивается, главным образом, покрытием сыров кислородонепроницаемыми материалами и низкими температурами хранения и транспортировки. В древние времена обеспечить анаэробные условия и низкие температуры хранения сычужных сыров далеко не всегда было возможно. Для этой цели могли быть использованы естественные пещеры. Одним из обязательных условий производства французского Рокфора и сейчас является его созревание в пещерах, в которых круглый год сохраняются благоприятные температура и влажность.

В местностях с умеренным климатом для этой цели сооружались подвалы. Почти до середины нашего века помещения для созревания и хранения сыров так и назывались «сырподвалы», хотя в результате развития холодильной техники сыры из подвалов давно поднялись на поверхность.

Альтернативой низких температур могла быть интенсивная посолка сыров. На заре сыроделия в странах с жарким климатом сыры для предупреждения порчи выдерживали и хранили в концентрированном растворе поваренной соли (рассоле). Такие сыры получили название «рассольных». Производство рассольных сыров и сейчас широко распространено на Среднем Востоке, Кавказе, в Болгарии, Греции, Египте и других странах. Их производство поддерживается многовековыми традициями в питании населения этих стран, что обеспечивает постоянный спрос на такие сыры.

Предполагают, что сыроделие возникло около 8000 лет назад в Месопотамии, на территории между Тигром и Евфратом – в колыбели цивилизации [325]. Затем оно распространилось на Средний Восток, Египет, Грецию, Рим. Из древних египетских рукописей можно сделать вывод, что уже за 4000 лет до РХ молочное дело достигло высокого уровня развития. В древнем захоронении недалеко от Каира были обнаружены остатки сыра, изготовленного предположительно 2200 лет назад.

Сыры неоднократно упоминаются в Ветхом завете, классической греческой литературе (Гомер, Геродот, Аристотель). Гомер писал о сыроделии как о хорошо развитом ремесле. Сыры входили в рационы питания гладиаторов, римских легионеров (27 г/сутки), их жертвовали богам на горе Олимп [221]. В Иерусалиме был стадион, расположенный в долине, окаймленной священными холмами, которая с древних времен

называлась Долиной сыроделов. Древнеримскими авторами (Колумелла, Плиний) описаны методы производства сыров.

Колумелла, римский землевладелец, в 60 г. до РХ в трактате о сельском хозяйстве (De Re Rustica) писал, что сыр нужно вырабатывать вдали от городов, где нет возможности продать молоко на базаре. Сыры с высокой влажностью следует продавать возможно быстрее («зелеными»), пока они не начали выделять сыворотку. Более концентрированные сыры, вырабатываемые из густого и богатого жиром молока, можно хранить дольше. Для изготовления сыра нужно использовать чистое свежее молоко. Обычно его свертывают телячьим или козьим сычужным энзимом, но можно использовать для этой цели цветы чертополоха, семена сафлора красильного, сок фигового дерева. В последнем случае сыры имеют сладковатый вкус.

Затем он описывает технологию производства сыра, включающую нагревание и свертывание молока, разрезку сгустка, перекладывание сгустка в плетеные корзины для возможно более быстрого удаления сыворотки, прессование, удаление спрессованного сыра из корзин и помещение в темное прохладное место на идеально чистые деревянные полки, опрыскивание рассолом в течение девяти дней с периодической подпрессовкой при увеличивающемся давлении. Затем сыры тщательно мыли и помещали в тень на решетку из прутьев для обсушки так, чтобы головки сыра не касались друг друга. После обсушки их можно было складывать в несколько рядов по высоте и хранить в закрытом месте без сквозняков. Сыры не должны быть вспученными, что случалось при недостаточном прессовании, пересоленными и пересушенными. Колумелла рекомендовал употреблять их свежими в течение нескольких дней после выработки, но если они предназначались для более длительного хранения, их помещали на некоторое время в рассол, затем подсушивали на солнце.

Комментируя римскую технологию, следует отметить, что она отличается от современной техникой, деталями, но не принципами. В те далекие времена не подозревали о существовании микроорганизмов, но сыроделы уже прекрасно понимали значение чистоты и свежести молока для качества сыров из тысячелетнего опыта их выработки. Отдельные детали этой технологии применяют и сейчас, например, ивовые корзины в производстве адыгейского сыра, созревание в рассоле.

Сыроделы Римской империи использовали для повышения стойкости сыров высокие концентрации соли и низкую влажность. По-видимому, уже тогда были заложены основы технологии терочных (зерненых) сыров с низкой влажностью (не выше 36%, но чаще 30% и ниже), производство которых наиболее развито в Италии. Эти сыры отличаются очень высокой стойкостью в хранении и имеют грубую консистенцию; их употребляют в пищу после измельчения на терке в виде приправы к другим блюдам, в частности к макаронам. В Римской империи вырабатывали сыр Лунар, который можно считать предшественником современного Пармезана [221]. Есть свидетельства, что этот сыр любил Юлий Цезарь.

Популярностью у жителей Римской империи пользовались копченые сыры; источниками дыма для копчения служили яблоневые дрова. Копченые сыры вырабатывают и сейчас, например, в России. Копчение повышает стойкость сыра при хранении и придает ему специфические вкусовые качества.

Завоевание Римской империей соседних территорий сопровождалось распространением сыроделия. После падения империи этому способствовала миграция населения, походы крестоносцев. Большой вклад в развитие сыроделия внесли монастыри, что объясняет наличие в названиях многих сыров имен святых и названий аббатств.

В средние века сыроделие развивалось в монастырях, феодальных поместьях, а позднее и как семейное ремесло в крестьянских хозяйствах. Производители старались дать своим сырам собственные названия, поэтому существовало большое количество названий, принадлежащих одному и тому же виду сыра, но вырабатываемому в разных местностях. Натуральный характер сыроделия порождал большие различия в химическом составе и органолептических показателях сыров даже одного и того же вида.

Первые письменные упоминания наиболее известных сыров приведены в табл. 1.2 [325, 622]. Безусловно, технология их была разработана много раньше. Так, описание римским писателем Плинием «гельвецкого» сыра в начале нашей эры скорее всего относится к сыру Сбринц, который пользуется большим спросом и в настоящее время. В Англии производство сыра Чешир началось более 1000 лет назад [622].

***1.2. Год первоначального упоминания наиболее известных сыров* [325, 622]**

Горгонзола	879	Чеддер	1500	Гауда	1697	Сен-Полен	1816
Рокфор	1070	Эмменталь	1542	Глостер	1783		
Мароль	1174	Пармезан	1579	Стильтон	1785		
Таледжио	1285	Грюйер	1602	Камамбер	1791		

Натуральный характер сыроделие носило до середины XIX века. Рост городского населения породил спрос на сыры, для удовлетворения которого началось их промышленное производство (1860–1880 гг.), хотя первая кооперативная сыродельная фабрика открыта примерно в 1380 г. в Воларберге на Балканах. Первая сыродельная фабрика в США была открыта в 1861 г. вблизи Нью-Йорка, вторая в Канаде (Онтарио) в 1864, затем в Англии в 1871 г. и вторая фабрика в Лонгфорде в графстве Дербишир [221, 622]. Вскоре промышленное производство стало доминировать и выработка сыров начала быстро расти.

Параллельно с количественными происходили важные качественные изменения в сыроделии. Необходимость этих изменений диктовалась низким качеством сыров. Так, в 1883 г. только 10% сыров можно было отнести к первому классу [221]. Громадную роль в повышении уровня и создании научных основ сыроделия сыграло открытие микро-

организмов и их роли в природе и пищевом производстве. В 1890–1900 гг. для выработки сыров стали применять чистые культуры молочнокислых бактерий и пастеризацию молока, контролировать выработку сыров по титруемой кислотности, проводить созревание в регулируемых температурных условиях. В 1904 г. появились плавленые сыры. В 1930 г. в Новой Зеландии было установлено, что главной причиной потери активности заквасок являются бактериофаги, которые и сейчас являются самой острой проблемой сыроделия.

Сыроделие в настоящее время переживает период бурного развития. В 70–80-х гг. XX века производство сыра в мире ежегодно возрастало примерно на 4% и к 1990 г. составляло около 12 млн. тонн в год. За период 1975–1992 гг. производство сыра возросло в Дании на 99%, в Германии – на 79%, в Нидерландах – на 64% [1159]. Оно продолжало увеличиваться в 90-х годах. Растет доля молока, перерабатываемого на сыр: в 1992 г. она составила 34% по сравнению с 32% в 1991 г. Наибольший прогресс достигнут в технике производства сыра, управлении технологическими, микробиологическими и биохимическими процессами. Наряду с совершенствованием традиционной технологии появилась принципиально новая технология, основанная на концентрировании молока методом ультрафильтрации. Постепенно переходят от использования в производстве сыров природных («диких») штаммов микроорганизмов к применению штаммов, полученных методами экспериментальной селекции и полнее удовлетворяющих требованиям сыроделия. Выдающимся достижением в биотехнологии сыра в 80–90 гг. следует признать разработку технологии и организацию промышленного производства химозина с помощью генетически модифицированных микроорганизмов (*E. coli K12, Kluyveromyces lactis* и *Aspergillus niger subsp. awamori*) [1068].

Современные заводы ежедневно перерабатывают на сыр сотни тонн молока, причем выработка сыра на одного рабочего, занятого непосредственно на производстве, составляет несколько тонн. Большие успехи достигнуты в управлении сложнейшими процессами формирования качества сыров. Сыроделие из искусства, которым оно было на протяжении тысячелетий, превращается в науку.

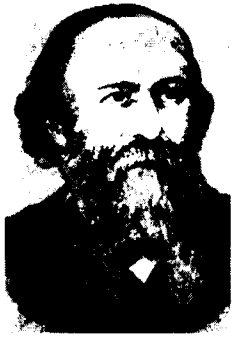
1.3. Развитие сыроделия в России

На территории бывшего СССР сыроделие, скорее всего, появилось на Кавказе. В некоторых горных районах до сих пор вырабатывают в домашних условиях сыры, например, сыр Мотал (Азербайджан, Чечня), с использованием мешков из шкур животных, в которых свертывают молоко. Интересно, что в Турции также существует сыр Тулум, созревающий в мешках из овечьих шкур [568].

На территории Азербайджана обнаружены глиняные маслобойки, глиняные кувшины с сетчатым дном для хранения сыра, датируемые

III–I тысячелетиями до новой эры. Еще более древнее происхождение имеет сыроделие в Армении.

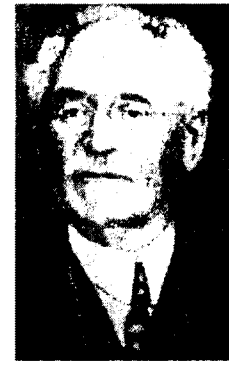
Первый маслодельно-сыродельный завод в Азербайджане открыт в 1843 г. в городе Нуха [1424]. В 1845 г. только из 6 уездов Азербайджана, присоединенных к России, на российский рынок продано 23270 пудов сыра [1424, 1468].



Верещагин Николай Васильевич 1839–1907 гг.

Первая сыроварня по производству сычужных сыров в России была открыта в 1795 г. в селе Лотошино Тверской губернии, в имении князя Мещерского [1259]. На сыроварне вырабатывали Швейцарский сыр. К 1866 г. в Европейской части России насчитывалось уже 72 помещичьих сыроварни. В основном, сыры на них вырабатывали для употребления в самом хозяйстве, которое носило натуральный характер.

Крестьянское артельное сыроделие в России начало развиваться по инициативе Н. В. Верещагина, революционера-народника, брата знаменитого художника, уроженца г. Череповца. Северное крестьянство, несмотря на отличные условия для молочного животноводства, было не заинтересовано в производстве молока из-за отсутствия его сбыта. Верещагин полагал, что переработка молока на сыр с поставкой его в промышленные центры может существенно улучшить экономическое положение крестьянства. Артельные сыроварни, в отличие от помещичьих, вырабатывали сыры на продажу, поэтому их открытие знаменует начало в России промышленного сыроделия. Первая артельная сыроварня была открыта в селе Отроковичи Тверской губернии в 1866 г.; мастерами в этой сыроварне были сам Верещагин и его жена. Через год уже насчитывалось 18 артельных сыроварен. Таким образом, промышленное сыроделие в России возникло в тот же период, когда появились сыродельные фабрики в Европе и Америке. В 1870 г. Верещагиным была организована в Петербурге первая мастерская по изготовлению молочного оборудования. К сожалению, в дальнейшем артельные сыродельни в России не получили широкого развития, за исключением Финляндии, где основной формой сыродельной промышленности стали кооперативные предприятия.



Калантар Аветис Айрапетович 1859–1937 гг.

Для подготовки отечественных мастеров по сыроделию Верещагин в 1871 г. в селе Едимоново Тверской губер-

нии с помощью Д. И. Менделеева открыл школу молочного хозяйства. За 30 лет ее существования было подготовлено более 1200 мастеров молочного дела. В школу приезжали учиться кроме жителей России баварцы, австрийцы, шведы, швейцарцы, турки [1213].



Королев Сергей Александрович 1874–1932 гг.

При Едимоновской школе действовала сыроварня, на которой в 1872 г. было выработано около 500 пудов сыра. Эти сыры продавались не только в России, но и за рубежом. Так, в 1882 г. в Англию направлено 24 тыс. пудов сыра Честер. За высокое качество русский Честер получил медаль на выставке в Лондоне. Интересно, что Даль в толковом словаре, изданном в 1880 г., писал про Швейцарский сыр: «маслянистый, ноздреватый, со слезой; он и у нас выделывается изрядно». Высокому качеству русских сыров в тот период способствовало качество молока, о котором последователь и соратник Верещагина А. А. Калантар писал: «молоко русских коров очень густое и жирное, дает весьма хорошего качества сыр». О Верещагине Калантар сказал: «Он создатель нашего молочного дела, и до тех пор, пока существует это производство, имя Верещагина будет упоминаться с благодарностью и уважением».



Инихов Георгий Сергеевич 1886–1969 гг.

Выдающуюся роль в развитии молочного дела в России сыграл и сам Калантар. После окончания Петровской земледельческой и лесной академии (ныне Московская с.-х. академия им. К. А. Тимирязева) он в 1882 г. по просьбе Верещагина стал руководителем Едимоновской школы и преподавателем теоретических дисциплин [1213].



Чеботарев Александр Иванович 1904–1990 гг.

Развитие промышленного сыроделия вызвало необходимость научных исследований в этой области. В 1883 г. Калантар вместе с Верещагиным организовали при Едимоновской школе первую молочно-хозяйственную лабораторию, позднее реорганизованную в опытную станцию для научных исследований в области молочного дела, оснастив ее лучшим по тому времени лабораторным оборудованием. Инихов [1391] назвал

1882 год «начальным по введению в России теоретического преподавания и организации научно-исследовательских работ в области молочного хозяйства, осуществляемых по инициативе Калантара».

К первой половине 20-х годов XX-го века в России действовало около 6500 кустарных маслодельных и сыродельных заводов [1457]. Первые 10 механизированных заводов были построены в середине 20-х годов на Урале и в Сибири.



Белоусов Александр Павлович 1900–1987 гг.

Для успешной работы молочная промышленность нуждалась в квалифицированных кадрах. Главной заслугой Калантара в организации подготовки специалистов было открытие первого в России учебного заведения для подготовки кадров высшей квалификации для молочной промышленности – Вологодского молочно-хозяйственного института (ныне Вологодская государственная молочно-хозяйственная академия им. Н. В. Верещагина). Впервые мысль о необходимости института молочного дела в России была им высказана в 1889 г., в 1910 г. он выступил с проектом такого института в Ученом Комитете Министерства сельского хозяйства, а 3 июня 1911 г. был издан закон об учреждении Вологодского молочно-хозяйственного института.



Граников Дмитрий Анатольевич 1902–1965 гг.

Строительство института начато в 1912 г. в имении датчанина Баумана (ныне пос. Молочное), в 14 верстах от Вологды [1404]. В 1917 г. строительство главного здания института было закончено, и этот год можно считать началом учебной и исследовательской деятельности Института, хотя низшая молочная школа при нем работала с 1914 г. В 1917 г. в институте начали работать курсы инструкторов по молочному делу, первый выпуск специалистов с высшим образованием состоялся в 1921 г. [1257].



Крашенинин Павел Фирсович 1919–1998 гг.

Кроме учебных кафедр, в состав института в 1918–1919 гг. входило 6 опытных станций (биохимическая, бактериологическая,



Николаев Алексей Михайлович 1904–1987 гг.

техники переработки молока, испытания машин, зоотехническая и кормодобывания), молочный завод, учебное хозяйство на площади 550 гектаров (начало свою деятельность в 1912 г.), постоянно действующие курсы. В 1924 г. из биохимической станции выделилась лаборатория коллоидной химии. Учебный завод Института по тем временам был крупным для России предприятием. На нем вырабатывали масло Вологодское, кисломолочные продукты, сгущенное и сухое молоко, сыры Голландский и Бакштейн. В 1926/27 гг. на заводе выработано 244 т сыра Голландский и около 9 т сыра Бакштейн. Заведение такого профиля и структуры было одним из первых в мире [1257].

В 1922 г. бактериологическая станция института начала выпускать сухие чистые культуры микроорганизмов, спрос на которые быстро рос: в 1922 г. их было выпущено 3000 порций, в 1927 г. – 13000 порций. Производство чистых культур для маслоделия было организовано ранее (1899–1900 гг.), в Московской бактериолого-агрономической станции, там же С. А. Северин и известный в то временя сыродел Д. Д. Лерчер впервые применили чистые культуры лактобацилл в производстве крупных сыров.



Шилер Геннадий Генрихович Род. 1929 г.

Первой в России научной работой по сыроделию была диссертация П. А. Ильенкова «Рассуждения о химическом процессе приготовления сыров», относящаяся к 1845 г. Калантар еще во время учебы в Петровской академии (1880 г.) провел исследования по составу русских сыров, результаты которых были опубликованы в Известиях академии в 1882 г. В 1883 г. он защитил диссертацию на тему «Микроскопическое исследование молока». По его предложению в сыроделии стали применять фосфорнокальциевые соли и бактериальные закваски, нормализацию молока. Он начал систематические исследования состава и свойств молока, считая контроль молока «альфой и омегой» молочного дела. Калантаром было написано первое практическое пособие по производству сыра, вошедшее в книгу «Общедоступное руководство по молочному делу» (1903 г.).

Большой вклад в развитие сыроделия внес проф. А. А. Попов, начавший свою деятельность в 80-х годах в Едимоновской школе и написавший популярное в свое время руководство «Сыроделие».

В 1890 г. при существующих бактериологических лабораториях были открыты молочно-хозяйственные опытные лаборатории в Петербурге, Москве и Тарту (Юрьеве). В 1902 г. такие лаборатории действовали также в Томске, Кургане, Омске, Канске, Барнауле. В том же 1902 г. начал издаваться журнал «Молочное хозяйство» [1625].



Рис. 1.1. *Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия*

В начале XX века большие исследования в области молочного дела велись в Московской бактериолого-агрономической станции (С. А. Северин, А. Ф. Войткевич, Л. Г. Будинов, С. А. Королев и др.). С 1914 г. центром научных исследований по молочному делу стал Вологодский молочно-хозяйственный институт. В этом институте выдающимися учеными С. А. Королевым, Г. С. Иниховым, Я. С. Зайковским разработаны научные основы микробиологии, биохимии и химии молока. Королевым создана школа микробиологов, из которой вышли В. М. Богданов, Г. Г. Блок, А. М. Скородумова и др. Питомцами ВМХИ являются ведущие сыроделы страны: В. Н. Алексеев, А. П. Белоусов, Д. А. Граников, А. В. Гудков, З. Х. Диланян, Г. В. Доильницин, И. И. Климовский, А. М. Николаев, Л. А. Остроумов, Р. Раманаускас, А. А. Розанов, А. И. Чеботарев и др. Уже к середине 20-х годов в институте была изучена микрофлора многих сыров, вырабатываемых в России: Русского бакштейна (С. А. Королев, А. М. Скородумова), Камамбера (Скородумова), Голландского из пастеризованного молока (С. А. Королев, С. Б. Панфилов), Ромадура (В. И. Верещагина). Проведены исследования по размножению и росту микробных клеток (И. А. Егунов), энергии размножения и кислотообразования некоторых молочнокислых бактерий, о взаимоотношениях молочнокислых бактерий и дрожжей (Н. Н. Зайковская).

Венцом этих исследований явилась замечательная монография по технической микробиологии, опубликованная Королевым в 1932 г., ко-

торая не потеряла значения до настоящего времени. В этой монографии впервые намечены экологические подходы к изучению сыров, впоследствии развитые во ВНИИМС [1333].



Табачников Владимир Петрович 1924–1981 гг.

Большое количество исследований посвящено химозину. Интересно, что Инихов еще в 1922 г. показал, что молоко с сычужным энзимом, выдержанное при 0° С в течение ночи и не свернувшееся, моментально свертывается после нагрева до 30–35° С [1391]. Зайковский пошел дальше – он выяснил, что коагуляция молока под действием сычужного фермента не происходит при температурах ниже 15° С [1383], что было установлено зарубежными учеными позднее на десятки лет. Именно эти факты послужили основой теории двухфазности сычужного свертывания молока, сформулированной Бериджем только в 1942 г. [77].

С начала образования Международной молочной федерации (1903 г.) российские ученые активно включились в ее работу, участвуют во всех Международных молочных конгрессах, публикуют результаты своих работ в иностранных изданиях.

В 1936 г. в Угличе была создана центральная научно-исследовательская лаборатория (ЦНИИЛС), преобразованная в 1944 г. во Всесоюзный научно-исследовательский институт маслодельной и сыродельной промышленности (ВНИИМС), который вместе с позднее организованными филиалами в Барнауле, Каунасе и Ставрополе стал крупным научно-экспериментальным центром мирового уровня. В состав ВНИИМС кроме исследовательских лабораторий входят биофабрика, вырабатывающая микробиальные препараты для производства сыров и масла, производственно-экспериментальный маслодельно-сыродельный завод, экспериментальный машиностроительный завод, животноводческое хозяйство. В становлении и развитии ВНИИМС как научного центра по сыроделию сыграли ведущую роль Д. А. Граников, К. С. Лебедева, П. Ф. Крашенинин, И. И. Климовский, А. П. Белоусов, В. В. Сирик, А. М. Николаев, А. А. Розанов, М. Р. Гибшман, В. Н. Алексеев, А. В. Гудков, Л. А. Остроумов, В. К. Неберт, Г. Г. Шилер.



Алексеев Валентин Николаевич 1925–2004 гг.



Климовский Иреней Иванович 1904–1996 гг.

В 20-е годы твердые сыры в России вырабатывали по зарубежным технологиям, которые не учитывали местные условия. Научному центру по сыроделию была поставлена задача разработать технологии сыров, адаптированные к российским условиям. В 30-х годах с участием ЦНИИЛС разработана технология сыров Советский (Граников), Костромской, Голландский круглый. Позднее институтом разработана технология большинства сыров, вырабатываемых в достаточно крупных количествах в России: Угличского (Граников, Лебедева); Российского (Николаев, Иванова); Пошехонского (Розанов, Алексеев); Белого Десертного (Крашенинин, Иванова, Доколин), Пикантного (Часов); Бийского (Крашенинин, Авданина); Литовского и Прибалтийского (Р. Раманускас и др.); Волжского и Волховского (А. Гудков, Алексеев, С. Гудков, Шергин); Айболит и Славянского (Горелова, Эрвольдер, А. Гудков, Неберт); сливочных сыров пяти наименований (Николаев, Виноградова); многих видов рассольных сыров (Рамазанов, Крашенинин и др.). Радикально усовершенствована технология сыров: Советского (Климовский, Гибшман, Остроумов, А. Гудков, Анищенко и др.), Костромского (Климовский, Розанов, Алексеев), Голландского круглого (Алексеев, Рамазанов), Российского (А. Гудков, Кандрина, Сахаров и др.) [1273].



Гибшман Мария Рудольфовна 1904–1961 гг.

Получили дальнейшее развитие научные основы использования микроорганизмов в сыроделии (Гибшман, Климовский, Рунов, А. Гудков, Белова, Перфильев, Белов, Свириденко, Уманский и др.). Во ВНИИМС возникло и успешно развивается новое направление в сыроделии – использование биологических способов подавления развития вредной микрофлоры в сырах, получившее международное признание (А. Гудков, Перфильев, Сорокина, Степанова, Хандак и др.).

На биофабрике ВНИИМС впервые в мире в конце 60-х начато серийное производство сухих бактериальных концентратов, пригодных для приготовления производственной закваски беспересадочным способом и непосредственного внесения в сырную ванну (за рубежом в это время вырабатывали малыми сериями бактериальные концентраты только в замороженном виде, применение которых сопряжено с большими трудностями). В разработке и орга-

низации производства сухих бактериальных препаратов ведущую роль сыграли Белова, Климовский, Крашенинин, А. Гудков, Перфильев, Маненкова, Брацило, Шергин, Рогов, Степанова и др. В институте разработана серия молокосвертывающих энзимных препаратов (Бузов, Звягинцев, Неберт и др.), создана система стандартизации молокосвертывающих энзимов, основанная на исследовании кинетики их действия (Сурков, Климовский, Краюшкин и др.).



Белова Галина Александровна род. 1924 г.

ВНИИМС стал центром подготовки научных кадров для сыроделия и маслоделия: с середины 60-х годов по 1998 г. включительно в институте подготовлено 13 докторов и 170 канд. наук. Большую роль в подготовке научных кадров для сыроделия сыграл Ереванский зооветеринарный институт, в котором плодотворно работала школа проф. Диланяна. В Московском технологическом институте мясомолочной промышленности под руководством проф. Граникова воспитана целая плеяда талантливых ученых сыроделов (Шалыгина, Лимантов, Соколова, Крусь и др.), в Вологодском молочном институте подготовкой научных кадров в послевоенный период руководили проф. Чеботарев и Сливко.

Производственную базу сыроделия в России до 60-х годов XX-го века составляли преимущественно полукустарные предприятия. С 60-х годов стали возводиться более крупные предприятия, в основном оснащенные импортным технологическим оборудованием. В 1916 г. в России было выработано 7,9 тыс. т сыров на 493 сыроварнях, в 1940 г. – 31,7 тыс. т. Начиная с 1960 г. начался стремительный рост производства: в 1960 г. было выработано 114,8 тыс. т, в 1985 г. – 403,9 тыс. т сыра. Сыр постепенно становился не деликатесным, а массовым продуктом питания. Центрами промышленного сыроделия в России стали Краснодарский, Ставропольский и Алтайский края, Ярославская, Костромская, Тверская области. Однако по уровню производства сыра СССР отставал от развитых стран (табл. 1.3).



Брацило Татьяна Емельяновна 1932–1988 гг.

1.3. Годовое потребление сыра (кг/чел.) в 1981 и 1992 гг. **[187, 1173]**

Место	Страна	Созревающие сыры	Свежие сыры	Общее	
				1981	1992
1	Греция	20,7	0,9	21,6	
2	Франция	14,2	4,7	18,9	
3	Исландия	7,3	7,1	14,4	
4	Италия			14,3	
5	ФРГ	7,9	6,2	14,1	
6	Швеция	13,3	0,6	13,9	16,7
7	Израиль	3,2	10,6	13,8	3,4
8	Бельгия	11,2	2,4	13,6	
9	Нидерланды	12,5	0,9	13,4	
10	Швейцария	12,7	0,5	13,2	15,0
11	Норвегия	12,1	0,4	12,5	13,9
12	Польша	2,6	9,7	12,3	16,7
13	Дания	10,5	0,4	10,9	15,5
14	Чехословакия	5,1	5,1	10,2	
15	Люксембург			10,2	
16	США	7,9	1,9	9,8	13,9
17	Канада	7,9	1,3	9,2	
18	Австрия	5,5	3,2	8,7	
19	Финляндия	7,5	1,1	8,6	
20	Новая Зеландия			8,5	
21	Австралия			6,6	
22	Венгрия	3,0	3,6	6,6	
23	Англия	6,3	0,1	6,4	
24	СССР			4,6	
25	Испания			3,8	
26	Ирландия			3,6	
27	Чили	1,8	0,3	2,1	
28	Южная Африка	1,3		1,3	
29	Япония			0,7	1,2

Производство сыра в России с 1987 г. начало сокращаться.

1.4. Классификация сыров

Вопрос классификации сыров остается до конца не решенным, что создает определенные трудности в торговле сырами, планировании производства и научных исследованиях. В разных странах могут вырабатываться сыры под одинаковым названием, отличающиеся технологией, и с разными названиями, но с одинаковой технологией.

Попытки классифицировать сыры делали А. Н. Королев, И. Б. Гисин, А. И. Чеботарев, З. Х. Диланян, П. Ф. Крашенинин, J. Davis, G. Burkhalter, R. Scott и др. [132, 221, 325, 945, 1349]. Система Чеботарева включает около 160 сыров, которые он разделил на три класса: сычужные (подклассы: твердые и мягкие), кисломолочные и переработанные (плавленые). Классы и подклассы в его классификации делятся на группы, в которых выделены типовые виды. Для каждой группы дана краткая товароведческая и технологическая характеристика, перечень аналогов и близких по свойствам видов сыров. К сожалению, эта система устарела. Некоторые сыры, которые в ней приняты за типовые, сейчас не производятся или вырабатываются в небольших количествах. Недостаточно объективных критериев для определения места сыра в этой системе. Система непригодна для международного использования, поскольку технология сыров, принятых за типовые, малоизвестна в международной научной и коммерческой сферах.



Диланян Завен Христофорович 1903–1991 гг.

Классификация сычужных сыров по Гисину показана в табл. 1.4. Приведенные в его системе виды кисломолочных сыров, кроме творога, в настоящее время не вырабатывают; сыры с сычужно-кислотным свертыванием представлены только Чайным сыром.

Классификация Гисина удобна, компактна, но, к сожалению, также устарела: такой признак первого порядка, как кислотность молока после созревания, не может быть классификационным, поскольку при выработке сыров из пастеризованного молока требования к кислотности молока практически одинаковы для всех сыров. Нет количественных характеристик температуры II нагревания и такого признака, как «слабопрессуемые». Вызывает возражение выделение в отдельную группу сыров, созревающих в пленках, бандажах, формах. В этой системе для классификации сыров широко использованы такие технологические приемы, как чеддеризация и плавление сырной массы, применяемые в производстве небольшого количества сыров. В системе Гисина представлены в основном сыры, вырабатываемые в бывшем СССР, и практически нет сыров, вырабатываемых в других

странах, хотя любая система классификации должна носить интернациональный характер.

1.4. Технологическая классификация сычужных сыров по Гисину [1368]

Кислотность М после созревания, °Т			>22				20–22				<20			
Температура II нагревания, °С			В	С	Н	О	В	С	Н	О	В	С	Н	О
Сухая корка	А. Созревающие на воздухе													
	Прессуемые	Без плавления	3	+	+	–	3	+	+	–	2	1	1	–
		С плавлением	+	10	+	–	+	+	+	–	+	+	+	–
	Прессование слабое или отсутствует	Без плавления	–	+	+	7	–	6	5	+	–	+	4	+
		С плавлением	+	+	+	–	+	+	+	–	+	+	+	–
		Плесень внутри	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	+
Слизь на корке	Прессование слабое или отсутствует	Без плавления	–	+	+	7	–	6	5	+	–	+	+	+
		Плесень: внутри	–	–	–	9	–	–	–	+	–	–	–	+
		на поверхности	–	–	+	8	–	–	+	+	–	–	+	+
В бандаже, форме, пленке, ткани и др.	Прессуемые	Без плавления	+	+	+	–	+	+	+	–	+	+	+	–
		С чеддеризацией	–	+	+	–	–	+	12	–	–	+	+	–
		С плавлением	+	10	+	–	+	+	+	–	+	+	+	–
	Прессование слабое или отсутствует	Без плавления	+	+	+	+	–	18	19	–	19	19	19	+
		С чеддеризацией	–	+	+	–	–	+	+	–	–	+	+	–
		Плесень на корке	+	+	–	–	+	+	–	–	+	+	–	–
	Б. Созревающие в рассоле													
	Самопрессующиеся		–	–	–	+	–	–	–	20	–	–	–	20
	Прессуемые		–	+	+	–	–	+	13	–	–	+	+	–
	С чеддеризацией и плавлением		14	–	–	–	+	–	15	–	+	–	+	–

Примечания: 1) М – молоко; В – высокая; С – средняя; Н – низкая; О – отсутствует; «+» – возможные варианты; «–» – невозможные или сомнительные варианты. 2) 1 – Голландский, Ярославский, Костромской, Степной; 2 – Советский, Московский, Кубанский; 3 – Сбринц, Горно-Алтайский терочный; 4 – Угличский; 5 – Латвийский, Краснодарский, Пикантный; 6 – Волжский; 7 – Дорогобужский; 8 – Смоленский, Закусочный; 9 – Рокфор; 10 – Качкавал, Южный; 12 – Чеддер, Российский; 13 – Чанах, Тушинский, Кобийский, Осетинский; 14 – Чечил; 15 – Сулугуни; 18 – Заралагесский; 19 – Мотал; 20 – брынза.

Основу системы Диланяна (табл. 1.5) составляет комбинация принципов, предложенных Гисиным и Чеботаревым [1349]. Положительным в ней является использование состава необходимой микрофлоры в качестве основания для классификации сыров, хотя сделано это не совсем последовательно. Молочнокислые бактерии необходимы для производства любого вида сыра, и поэтому их применение не может служить классификационным признаком. Однако можно и нужно использовать для этой цели родовую принадлежность применяемых молочнокислых бактерий, от которой зависит специфичность вырабатываемых с их по-

мощью сыров, что в классификации Диланяна не сделано. Очень большое место в его системе занимает прессование сыров. Одной из целей прессования является удаление сыворотки, и поэтому прессуемые и непрессуемые сыры будут иметь разную влажность, а следовательно, разные органолептические показатели. Однако влажность сыров зависит от многих факторов. Так, все твердые сыры прессуются, но влажность их изменяется в очень широком интервале: от 25 до 46% (табл. 1.5). За классификационный признак нужно принимать не прессование, а влажность сыров, которую можно охарактеризовать количественно.

1.5. Классификация сыров по Диланяну **[1349]**

1-ый класс. Параказеиновые (сычужные) сыры
1.1 подкласс. Возбудители – молочнокислые и пропионовокислые бактерии (твердые сыры)
А. Сыры с высокотемпературной обработкой сырной массы
а. прессуемые (с гладкой замкнутой поверхностью)
б. самопрессующиеся с чеддеризацией и плавлением сырной массы до формования
Б. Сыры с низкотемпературной обработкой сырной массы
а. прессуемые (с гладкой замкнутой поверхностью)
б. прессуемые с полной или частичной чеддеризацией сырной массы
в. самопрессующиеся (с незамкнутой, шероховатой поверхностью)
г. самопрессующиеся, потребляемые в свежем виде
д. сыры, созревающие в рассольной среде
1. без чеддеризации
2. с чеддеризацией
1.2 подкласс. Возбудители – молочнокислые и слизеобразующие бактерии (полутвердые самопрессующиеся сыры)
1.3 подкласс. Возбудители – слизеобразующие и молочнокислые бактерии, плесени
а. сыры, созревающие под влиянием щелочеобразующих бактерий сырной слизи и молочнокислых бактерий
б. сыры, созревающие под влиянием щелочеобразующих бактерий сырной слизи, плесеней и молочнокислых бактерий
в. сыры, созревающие под влиянием плесеней и молочнокислых бактерий
1. плесень внутри сыра
2. плесень на поверхности сыра
2-й класс. Казеиновые (кисломолочные) сыры
2.1 подкласс. Свежие сыры
2.2 подкласс. Выдержанные сыры
3-й класс. Переработанные сыры
3.1 подкласс. Плавленые сыры
3.2 подкласс. Прочие

Система Диланяна включает 395 видов сыров, автор предпринял попытку установить этимологию названий многих зарубежных сыров. К

сожалению, таксономическое положение многих сыров в системе вызывает возражения. Так, в группу А «Сычужные сыры с высокотемпературной обработкой сырной массы» включены терочные сыры; сыры с высокой температурой II нагревания; сыр Колби – вариант сыра Чеддер; сыры Данбо, Эльбо, Мольбо, Самсю, Тюбо – с низкой температурой II нагревания.



Остроумов Лев Александрович Род. 1934 г.

Классификация сыров должна основываться на тех показателях, которые оказывают решающее влияние на их органолептические свойства и пищевую ценность. На наш взгляд, к таким показателям относятся: тип основного сырья, способ свертывания молока, участвующая в производстве сыра микрофлора, главные показатели химического состава и принципиальные особенности технологии.

По типу основного сырья сыры делят на натуральные, вырабатываемые из коровьего, овечьего, козьего, буйволиного молока, их смесей, и плавленые, базовым сырьем для которых являются натуральные сыры. Натуральные и плавленые сыры различаются принципиально и классифицировать их нужно по разным признакам. В этой работе рассматривается классификация только натуральных сыров, которые дальше именуются просто «сырами», так как плавленые сыры вырабатывают также из натурального сырья.

Тип молока придает специфические особенности сыру. Рокфор из коровьего молока, например, никогда не будет по вкусу идентичен сыру из овечьего молока, выработанному по той же технологии.

В сыроделии используют четыре типа свертывания молока: сычужное, кислотное, сычужно-кислотное, термокислотное. Продукты кислотного свертывания, вырабатываемые с отделением сгустка от сыворотки, в России обычно относят к кисломолочным продуктам. В международной практике их считают сырами, так как и те, и другие представляют белково-жировые концентраты молока. Однако в продуктах кислотного свертывания молока казеин в основном находится в нативном виде, а в сычужных сырах большая часть казеина расщеплена, причем масштабы и глубина протеолиза определяют характер консистенции и во многом другие органолептические показатели продукта. Кислотное свертывание молока происходит при низком pH (4,6–4,7) (в производстве сычужных сыров молоко свертывается при pH 6,6–6,7), что в сильной степени влияет на состав сыров, в частности, на содержание в них Ca, P, молочной кислоты, и делает невозможными в кислотном сгустке процессы, которые протекают при созревании сычужных сыров. Все это свидетельствует о необходимости выделения кисломолочных сыров в отдельный класс или подкласс.

Кислотно-сычужное свертывание молока при использовании небольших доз молокосвертывающих энзимов повышает уровень pH, при

котором молоко свертывается, до 5,0–5,2, но все равно этот тип свертывания является кислотным, потому что небольшие дозы сычужного энзима недостаточны для трансформации казеина в параказеин в той степени, которая необходима для образования сычужного сгустка. В этом случае молокосвертывающие энзимы добавляют в молоко для повышения плотности сгустка и уменьшения потерь казеина, ускорения синерезиса.

Термокислотное свертывание (нагревание подкисленного молока до высоких температур) происходит при более высоком pH, чем кислотное, что обусловливает получение продукта со специфическими свойствами, которые отличаются от свойств сычужных и кисломолочных сыров. Отнесение продуктов этого вида к сырам является спорным, так как в их производстве не принимают прямого участия молокосвертывающие энзимы и микроорганизмы и не происходит биотрансформация компонентов молока.

Огромную роль в формировании специфических органолептических показателей сыров играют микроорганизмы. В производстве всех сыров в состав необходимой микрофлоры входят мезофильные и/или термофильные молочнокислые бактерии. Образуемые молочнокислыми бактериями энзимы играют главную роль в трансформации компонентов молока в соединения, обусловливающие общие для всех сыров органолептические показатели. Молочнокислые бактерии сбраживают молочный сахар, повышают кислотность и снижают окислительно-восстановительный потенциал в сыре до определенного уровня. Тем самым создаются условия, в которых протекают биохимические и микробиологические процессы. В то же время продукты метаболизма мезофильных и термофильных молочнокислых бактерий, в частности продукты протеолиза, сильно различаются, что оказывает существенное влияние на органолептические показатели сыров, вырабатываемых с их участием. Поэтому тип молочнокислых бактерий, используемых в производстве сыра, может служить признаком для классификации сыров.

Кроме молочнокислых бактерий в производстве различных групп сыров принимают участие другие микроорганизмы, придающие специфические свойства этим сырам. Использование для выработки сыров плесневых грибов не только коренным образом меняет органолептические показатели сыров, но и требует радикальной перестройки всей технологии. В зависимости от состава необходимой микрофлоры сыры можно разделить на вырабатываемые при участии:

- только мезофильных молочнокислых бактерий;
- мезофильных и термофильных молочнокислых и пропионовокислых бактерий;
- плесневых грибов;
- микрофлоры поверхностной слизи;
- бифидобактерий и/или ацидофильной палочки – диетические (функциональные) сыры.

Без непосредственного участия микроорганизмов вырабатывают сывороточные и сливочные сыры.

Из химических показателей наиболее часто используют для классификации сыров содержание в них влаги. Это вполне оправдано, так как содержание влаги, точнее отношение ее к содержанию сухих обезжиренных веществ, является важнейшим показателем сыра. Влага является пластифицирующим веществом, поэтому чем выше содержание влаги, тем пластичнее, нежнее консистенция сыра. От содержания влаги зависит количество растворенных в водной фазе молока веществ, остающихся в сыре. Наибольшее значение из них имеет лактоза, из которой в сыре образуется основное количество органических кислот, влияющих на органолептические показатели сыра непосредственно и через микробиологические и биохимические процессы в сырной массе. Чем выше содержание влаги в сыре при прочих одинаковых условиях, тем быстрее созревают сыры, тем ниже их стойкость в хранении и энергетическая ценность.

Содержание влаги в сыре взаимосвязано с технологическими и микробиологическими факторами. Для получения сыров с низким содержанием влаги нужны высокие температуры II нагревания, прессование с применением внешних нагрузок, тогда как для выработки сыров с высоким содержанием влаги II нагревание и прессование часто вовсе не требуются. Высокая кислотность сыров с повышенным содержанием влаги резко снижает активность энзимов молочнокислых бактерий, под действием которых происходит созревание сыров. Созревание этих сыров могут ускорить кислотоустойчивые микроорганизмы, способные усваивать молочную кислоту. Этим и объясняется появление среди сыров с высокой влажностью и повышенной исходной кислотностью вариантов, созревающих в аэробных условиях с участием микрофлоры поверхностной слизи или плесневых грибов. С другой стороны, чем меньше влаги в сырах, тем медленнее они созревают, что побудило повышать температуру их созревания, а это, в свою очередь, привело к развитию в сырах пропионовокислых бактерий – представителей вторичной микрофлоры, сбраживающих молочную кислоту, образуемую молочнокислыми бактериями. Приведенные примеры указывают на тесную взаимосвязь содержания влаги в сыре с другими его характеристиками, что и обусловливает выбор этого показателя как классификационного.

Кроме содержания влаги, в классификации сыров используют содержание в них жира (полножирные, полужирные и обезжиренные). Содержание жира во многом определяет пищевую ценность, консистенцию, вкус и аромат сыров. Обезжиренные сыры никогда не обладают вкусом и ароматом, характерными для качественных сыров, и поэтому, как правило, используются в виде полуфабрикатов. Лучшими органолептическими показателями твердые сыры обладают при содержании в них 45–50% жира в сухом веществе или более 20 абсолютных процентов. Однако жирность сыров не может служить основанием для классификации сыров, потому что сыры каждой группы можно выработать с различной жирностью.

На основе вышеизложенных принципов и принятой дифференциации сыров разработана новая система их классификации (табл. 1.6).

В нее включены отечественные и зарубежные виды сыров. Следует отметить, что зарубежные аналоги могут неполностью вписываться в предлагаемую систему. Так, в созревании некоторых твердых сыров с высокой температурой II нагревания (Грюйер де Комте, Бофор, Аппенцеллер) принимает участие микрофлора сырной слизи [1025], и они по вкусу, запаху и консистенции несколько отличаются от отечественных сыров этой группы. В то же время отличия недостаточны для того, чтобы их выделить в отдельную группу.

1.6. Классификация сыров

№	Классы, подклассы, группы	Основные представители
1	2	3
	А. Сыры из коровьего молока	
1.	**Твердые сычужные.** В 25–46. Прессуются. Посолка в рассоле	
1.1	Терочные (зерненые). Т II нагревания >50° С. В 25–35; ВОМ 42–53; мезофильные и термофильные м/к, без рисунка или с мелким рисунком	Горный терочный, Кавказский терочный (Р), Пармезан, Грана (И), Вестерботост (Ш), Сбринц (Шв)
1.2	Крупные. Т II нагревания >50° С, В 35–40; ВОМ 51–57; мезофильные и термофильные м/к, п/к. Рисунок крупный, 1–4 см. Вкус слегка сладковатый. На некоторых зарубежных сырах допускается рост поверхностной слизи	Советский, Швейцарский, Швейцарский блочный, Бийский, Алтайский (Р), Эмменталь, Грюйер, Аппенцеллер (Шв), Гергардост (Ш), Грюер де Комте, Бофор (Ф), Ярлсберг (Нор)
1.3	Со средней Т II нагревания (43–50° С), В 36–42; ВОМ 57–59; м/к и п/к, рисунок средних размеров	Горный, Украинский, Карпатский (Р), Азиаго, Фонтина и Монтацио (И), Маасдам (Н), Рас (Е)
1.4	С низкой Т II нагревания (35–41° С). В 40–46; ВОМ 55–62. Рисунок мелкий овальный или неправильный, pH после прессования 5,5–5,9. Мезофильные м/к. Формуются из пласта, часть насыпью	Голландский (круглый и брусковый), Костромской, Ярославский, Степной, Эстонский, Угличский и Буковинский (Р), Эдам, Гауда (Н), Данбо, Финбо, Самсю, Тубо, Ельбо, Марибо, Хаварти, Мешангер (Д), Турунмаа (Фин), Фонтал (И), Мазурский (П), Норвегия (Нор), Прато (Бра), Явор (Ч), Балатон (В), Бротэдамер (Г), Мимолете, Сен-Полен (Ф), Патеграс Аргентино
1.5	С высоким уровнем м/к брожения (pH после прессования 4,8–5,2). Мезофильные, редко термофильные м/к	
1.5.1	*С чеддеризацией сырной массы,* ВОМ 50–56, без рисунка	Чеддер, Чешир, Лестер, Глостер, Данлоп, Ланкашир, Колби, Карфилли (ОК)

1	2	3
1.5.2	*Без чеддеризации сырной массы.* В 38–42, ВОМ 55–59, рисунок неправильный, угловатый	Российский, Русский, Кубань, Волжский (Р), Свесия (Ш), Кантал (Ф)
2.	**Полутвердые** Созревают при участии м/ф поверхностной слизи и мезофильных, иногда и термофильных м/к. В 44–46%. Формуются наливом. Рисунок угловатый, неправильный. Вкус острый, аммиачный. Самопрессующиеся	Пикантный, Латвийский (Р), Тильзит (Г), Брик (США)
3.	**Мягкие** В 46–82%, в основном самопрессующиеся	
3.1	Свежие кисломолочные. В 57–82%, кислотное или сычужно-кислотное свертывание, мезофильные м/к, не созревают	Любительский, Моале, Останкинский, Клинковый, Молдавский, Чайный, Домашний, Творог (Р), Коттедж и Кембридж (ОК), Кареиш (Е), Фромаже Фре (Бел), Бейкер (США)
3.2	Диетические (функциональные). Вырабатывают с мезофильными м/к, бифидобактериями и *L. acidophilus*	Айболит и Славянский (Р)
3.3	Грибные. Свертывание сычужное. Вырабатываемые с участием плесневых грибов. Вкус острый, грибной. ВОМ не ниже 67%	
3.3.1	*Плесень на поверхности.* Созревают 7–50 сут. В начале созревания ограниченный рост м/ф сырной слизи	Русский камамбер, Белый десертный (Р), Бри, Камамбер, Карре де'Ест, Невшатель и Шаурс (Ф), Талледжио (И)
3.3.2	*Плесень по всей массе сыра*	Рокфор (Р), Голубой (голубой прожилочный) и Горгонзола (И), Стильтон (ОК), Данаблю и Мицелла (Д), Гамелост (Нор), Аделост (Ш), Эдельпильц (А), Тироллерграу (Г), Кабралес (Ис), Блю д'Овернь, Фурм д'Амбер (Ф)
3.4	Слизневые сыры. В 46–65%, вырабатываются с м/ф поверхностной слизи, или слизи плесневых грибов. Вкус острый, аммиачный	Дорогобужский, Смоленский, Дорожный, Пятигорский, Нямунас, Рамбинас, Бауский (Р), полузрелые Бри и Камамбер, Мароль, Сен-Полэн и Мюнстер (Ф), Вашерен Монт д'Ор (ШВ), Лимбургский (Бел), Ромадур (Г), Бель Пезе (И), Трапист (П), Liederkranz и Monterey (США)

1	2	3
3.5	Сывороточные. Свертывание термокислотное	Адыгейский (Р), Рикотта (И), Бруност (Нор), Кесо Бланко (ЛА)
3.6.	**Сливочные.** В 56–72%, свертывание сычужно-кислотное. Концентрирование молока центробежным и ультрафильтрационными методами, без созревания. Обезжиренное молоко свертывают мезофильные м/к	Сладкий, Фруктовый (ягодный), Метелица (Р), Крим (ОК), Петит Суес (Ф)
4	**Рассольные** Содержание соли от 3 до 8%. В 50–55%	
4.1	**Без чеддеризации и плавления.** Консистенция однородная, слегка ломкая	Брынза, Грузинский, Имеретинский, Карачаевский, Лиманский, Осетинский, Столовый и Чанах (Р), Белый десертный (Б), Фета (Гр), Домиати (Е), Телемаа (Рум)
4.2	**С чеддеризацией и плавлением.** Консистенция волокнистая, упругая	Сулугуни, Слоистый, Чечил (Р), Качкавал (Б), Восточный, Моцарелла, Проволоне (И), Касери (Гр)

Б. Сыры из молока других животных	
5.	**Из овечьего молока** Твердые, в т. ч. со средней температурой II нагревания, типа Пекорино (И), с плесенью, рассольные
6.	**Из козьего молока** Свежие, сывороточные, рассольные
7.	**Из буйволиного и смеси буйволиного молока с коровьим** Рассольные, свежие

Примечания. 1. Страны, в которых начали вырабатывать данный сыр: А – Австрия; Б – Болгария; Бр – Бразилия; Бел – Бельгия; В – Венгрия; Г – Германия; Гр – Греция; Д – Дания; Е – Египет; И – Италия; Ис – Испания; ЛА – Латинская Америка; Н – Нидерланды; Нор – Норвегия; ОК – Великобритания; П – Польша; Р – Россия и страны ближнего зарубежья; Рум – Румыния; Ф – Франция; Фин – Финляндия; Ч – Чехословакия: Ш – Швеция; Шв – Швейцария.

2. В – массовая доля влаги в сыре, %; ВОМ – массовая доля влаги в сырной массе без жира, %; м/к – молочнокислые бактерии; п/к – пропионовокислые бактерии; м/ф – микрофлора.

В предлагаемой классификации выделено несколько новых подклассов. В отдельный подкласс из сыров с высокими температурами II нагревания выделены терочные сыры, отличающиеся отсутствием пропионовокислого брожения и рисунка, низким содержанием влаги. В твердых сырах выделен подкласс сыров со средней температурой второго нагревания (43–50° С), которые обладают менее выраженными

органолептическими показателями, чем сыры с высокой температурой второго нагревания.

Доминирующая микрофлора сыра Пекорино из овечьего молока (в порядке убывания): лактококки, педиококки, термофильный стрептококк, *Lbc. plantarum* и *Lbc. casei*; лучшее соотношение между мезофилами и термофилами 4:1 [226].

В мягких сырах выделен подкласс диетических сыров, обладающих лечебными и диетическими свойствами. Такие пищевые продукты сейчас называют функциональными [513]. В него включены два отечественных сыра, вырабатываемые с бифидобактериями и ацидофильной палочкой. В сыре Славянский, кроме этого, часть натрия заменена калием, необходимым для нормальной сердечной деятельности.



Рис. 1.2. *Сыр Грана*

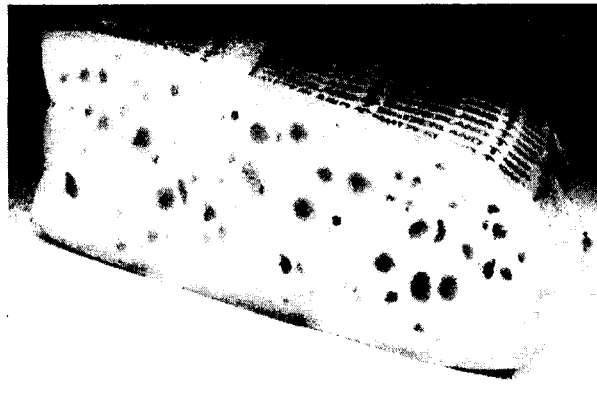


Рис. 1.3. *Сыр Эмменталь*

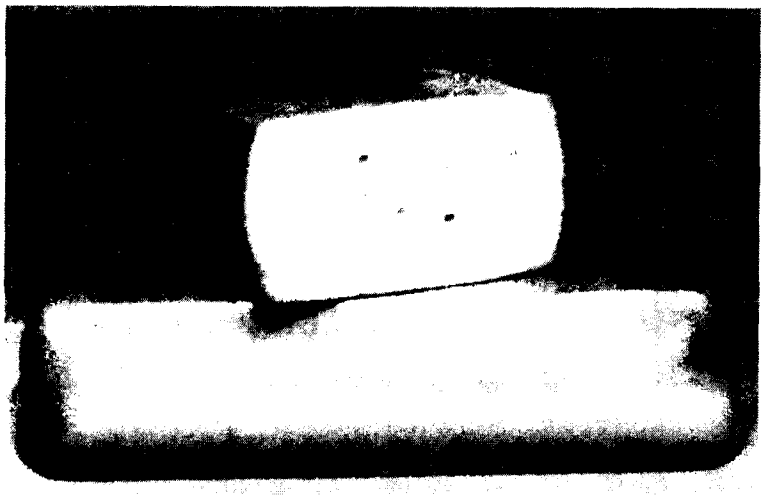


Рис. 1.4. *Советский сыр*

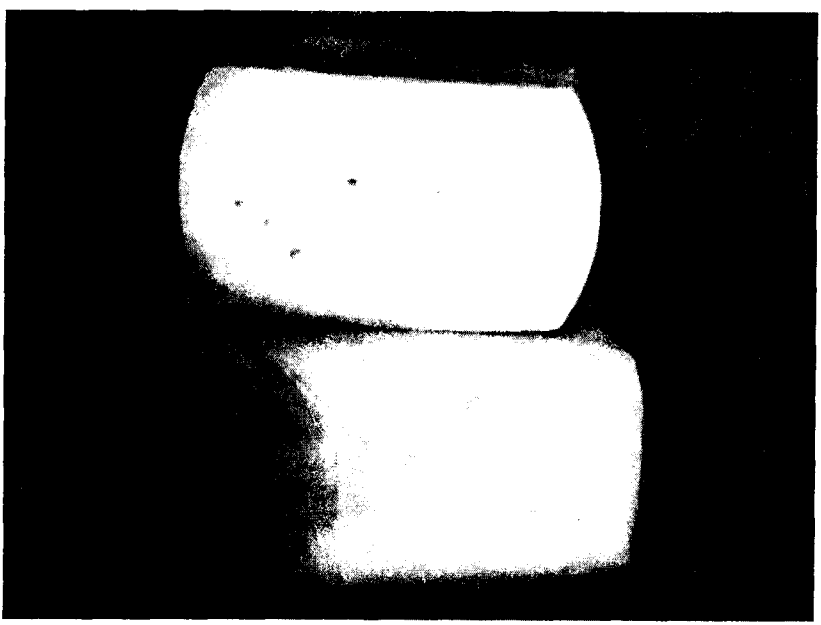


Рис. 1.5. *Голландский брусковый сыр*



Рис. 1.6. *Сыр Рокфор*

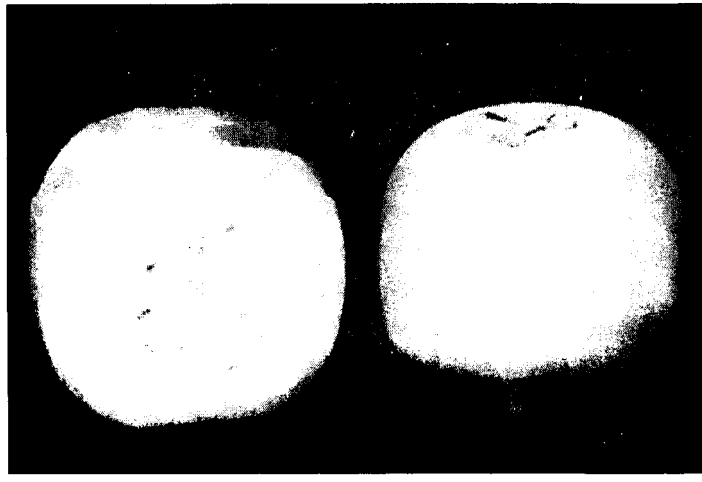


Рис. 1.7. *Голландский круглый сыр*

Из зарубежных наиболее близкой к приведенной выше является классификация сыров, предложенная Scott [325, 945] (табл. 1.7).

1.7. Классификация сыров по Scott [325, 945]

Твердые сыры (содержание влаги 20-42%)

Низкая ТВТ м/к	Средняя ТВТ м/к	Высокая ТВТ м/к и п/к	С плавлением м/к и/или п/к
Эдам, Гауда (Н), Кантал (Ф), Фонтина (И), Чешир (ОК)	Чеддер, Глостер, Дерби, Лестер, Данлоп (ОК), Свесия (Ш), Турунмаа (Фин)	Грана (Пармезан), Азиаго (И), Эмменталь, Грюйер, Сбринц (Шв), Бофор (Ф), Герргардсост (Ш)	Скармоца, Проволоне, Моцарелла (И), Качота, Качкавал (Б), Казери (Г)

Полутвердые сыры (содержание влаги 44–55%)

м/к	мс	пв
Сен-Полэн, Провиденс (Ф) Карфилли (ОК), Ланкашир (ОК), Трапист (Н)	Эрв, Лимбургский (Бел), Ромадур, Мюнстер, Тильзит, Штейнбушер (Г), Вашерен Монд д'Ор (Шв), Брик (США)	Рокфор (Ф), Горгонзола (И), Данаблю, Мицелла (Д),Уенслидейл, Блю Винни, Стильтон (ОК), Гамелост (Нор), Аделост (Ш), Аура (Фин), Эдельпильц (А), Кабралес (Е)

Мягкие сыры (содержание влаги > 55%)

мс или пп	пп	м/к	б/с, кс
Бри, Мароль (Ф), Бел Паезе (И)	Камамбер, Карре д'Ист, Невштатель, Шаурс (Ф)	Колвиш, Лактик (ОК), Бондо (Ф)	Куломье, Петти Суис (Ф), Йорк, Кембридж, Коттедж, Крим (ОК) Кварг (творог)

Ключ к таблице: м/к – молочнокислые бактерии; п/к – пропионовокислые бактерии; пп – плесневые грибы на поверхности (*Pen. candidum, Pen. camemberti*; пв – плесневые грибы внутри (*Pen. glaucum или Pen. roqueforti*); мс – микрофлора слизи (*Brevibacterium linens*); кс – кислотное свертывание; б/с – обычно не созревают. ТВТ – температура II нагревания. Коды стран такие же, как в табл. 1.6.

ГЛАВА 2

КОАГУЛЯЦИЯ МОЛОКА. СИНЕРЕЗИС СГУСТКА

2.1. Общие понятия

Молоко является сложной полидисперсной системой. В виде истинного раствора в молоке (молочной сыворотке) находится большинство неорганических компонентов, лактоза, водорастворимые витамины, небелковые азотистые соединения и другие минорные низкомолекулярные соединения. Размеры молекул растворенных соединений не превышают 1,5 нм.

В виде коллоидного раствора в молоке находятся казеины, сывороточные белки, большая часть фосфатов кальция. Размеры коллоидных частиц молока: сывороточных белков – 15–50 нм, казеина – 30–300 нм, фосфатов кальция – 10–20 нм. Для коллоидных систем характерна неустойчивость, обусловленная большой удельной поверхностью дисперсной фазы и, соответственно, большим запасом свободной энергии системы. При переходе системы в более устойчивое состояние частицы дисперсной фазы укрупняются.

Молочный жир содержится в молоке в виде эмульсии; средний размер жировых шариков в коровьем молоке равен 2,0–2,5 мкм, минимальный – 0,1 мкм (100 нм), максимальный – 10 и более мкм. Жировая эмульсия в молоке неустойчива, чему способствует разная плотность дисперсной фазы и дисперсной среды, благодаря которой происходит самопроизвольное отстаивание молочного жира.

Суть сыроделия состоит в концентрировании белков и жира молока и биотрансформации основных его компонентов в соединения, обусловливающие специфические органолептические показатели продукта. Таким образом, необходимой стадией производства любого сыра является *дестабилизация коллоидной фазы* молока и отделение ее от части дисперсной среды, т. е. *расслоение системы*.

Коллоидные растворы могут находиться в состоянии *золя* или *геля*. В состоянии золя коллоидные частицы, обычно называемые *мицеллами*, не связаны друг с другом и находятся в свободном броуновском движении. После дестабилизации коллоидные частицы начинают связываться друг с другом – образуются их агрегаты. Процесс агрегации коллоидных частиц называют *коагуляцией* (от лат. coagulum – сгусток).

Коагуляция бывает *скрытой* и *истинной*. При скрытой коагуляции мицеллы связываются друг с другом не всей поверхностью, а только на некоторых ее участках, образуя пространственную мелкоячеистую структуру, которая называется *гелем*. При дестабилизации всех или большинства частиц дисперсной фазы гель охватывает весь объем дисперсной среды (исходного молока). Скрытую коагуляцию называют

просто *коагуляцией*, *гелеобразованием* или *свертыванием*. Истинная коагуляция заключается в полном слиянии коллоидных частиц и выпадении дисперсной фазы в осадок или всплывании. Истинная коагуляция в дальнейшем будет называться *осаждением*.

Коллоидная система свежего молока является золем. Концентрирование компонентов молока в сыроделии начинается с коагуляции молока энзиматическим, кислотным, кислотно-энзиматическим методами или осаждения белков термокислотным методом.

При коагуляции белков молочный жир и вода с растворенными веществами (сыворотка) достаточно прочно захватываются образующимся гелем, при осаждении белков только небольшое количество молочного жира и водной фазы может быть механически удержано осадком.

Выработку и созревание сычужных сыров ведут при невысоких температурах и активной кислотности, называемых физиологическими, чтобы обеспечить возможность осуществления биологической трансформации компонентов молока с минимальными потерями пищевой ценности.

При использовании термокислотного метода отделяют жировую фазу молока сепарированием, осаждают белки обезжиренного молока и смешивают их со сливками. Осаждение заключается в быстром подкислении молока до более низкого, чем изоэлектрическая точка, уровня добавлением кислой сыворотки, кислого молока, лимонного сока, уксусной кислоты и нагревании его до высоких температур (90–95° С). Таким образом, при энзиматической коагуляции казеин и жир молока концентрируются одновременно, при термокислотном – в результате двух процессов: центробежного и осаждения.

Кислотный метод заключается в свертывании молока в изоэлектрической точке казеина (pH 4,6) путем медленного образования микроорганизмами кислот или внесения в молоко кислот (обычно соляной), или ацидогенов (например, глюко-лактона); он применяется в производстве свежих сыров или сыров с короткими сроками созревания. Энзимы, участвующие в созревании сычужных сыров, не проявляют активности в кислотных сырах из-за низкого pH. Степень трансформации белков и липидов молока в кисломолочных сырах ниже, вкусовой букет уже, чем в сычужных сырах.

Кислотно-энзиматический метод является вариантом кислотной коагуляции, с внесением в молоко небольшого количества молокосвертывающих энзимов, недостаточного для энзиматической коагуляции при pH свежего молока. В этом случае коагуляция молока происходит при pH 5,1–5,4 (в изоточке параказеина). Добавление молокосвертывающих энзимов благоприятно сказывается на скорости свертывания, прочности сгустка и выделении сыворотки, однако при pH кислотно-сычужной коагуляции молока происходят радикальные изменения мицелл казеина, что резко изменяет структуру сгустка и сыра по сравнению с таковыми при сычужном свертывании. Сгусток, образующийся

при производстве сыров кислотно-энзиматическим методом, по своим свойствам ближе к кислотному сгустку, качество продуктов – ближе к кисломолочным сырам.

Определенное распространение в производстве рассольных и некоторых других сыров получило концентрирование молока ультрафильтрацией.

2.2. Белки молока: состав, номенклатура, основные свойства

Состав и отличительные свойства белков молока показаны в табл. 2.1 [127, 253, 1202]. Около 90% белков молока синтезируются молочной железой, остальные проникают в него через стенки кровеносных сосудов из крови.

Белки молока делят на казеины и сывороточные белки. Казеины нерастворимы при pH 4,6 и 20° С (изоэлектрическая точка), коагулируют под действием кислых протеаз (химозина, пепсинов и др.). К сывороточным относят белки, которые не коагулируют под действием химозина и других молокосвертывающих энзимов и остаются при выработке сычужных сыров в сыворотке. Коагуляция молока под действием энзимов, образующихся в организме новорожденных млекопитающих (в основном химозина), является начальным этапом переваривания ими казеина. Несвертываемость сывороточных белков под действием химозина свидетельствует о возможности их усвоения в нативном виде, необходимость которой связана с характером выполняемых сывороточными белками специфических функций. К таким функциям относятся защита новорожденных от инфекций, участие в формировании у них собственных защитных систем.

Содержание сывороточных белков и иммуноглобулинов выше всего в молозиве (до 90% белков молозива), поскольку новорожденные особенно нуждаются в защите от инфекций. Интересно, что в начальный период жизни (до 14 суток) в желудке у новорожденных образуется химозин и практически не вырабатываются пепсины, способные расщеплять иммуноглобулины. При переходе с молочного на обычное кормление, наоборот, начинают образовываться пепсины, а выделение химозина практически прекращается. Таким образом, функции, выполняемые белками в организме, зависят от возраста животного. Содержание сывороточных белков возрастает в стародойном молоке и при заболевании коров маститами, когда проницаемость стенок кровеносных сосудов увеличивается.

Сывороточные белки являются глобулярными белками и представляют собой гидрофильные коллоиды. Благодаря прочной гидратной оболочке и высокой дисперсности они находятся в молоке в состоянии устойчивого коллоидного раствора [1202]. В отличие от казеинов они начинают денатурироваться при сравнительно невысоких температурах (выше 65° С) с последующей агрегацией и осаждением на казеине [127].

2.1. Номенклатура и отличительные свойства белков молока

Белки	% от белков обезжиренного молока	Генетические варианты	Молекул. масса	Кол-во групп/молек.				Характерные признаки
				Аминокисл.	P	-S-S-	-SH	
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Казеины	75–85							
α_{s1}- казеины	39–46	A, B, C, D	23600	199	8–9	–	–	Чувствителен к ионам Са; А короче на сегмент из 13 остатков аминокислот; вариант D имеет добавочный Р
α_{s2}- казеины	8–11	A, B, C, D	25150	207	10–13	–	2	Чувствителен к ионам Са; А короче на сегмент из 13 остатков аминокислот; вариант D имеет добавочный Р
β-казеины	25–35	A_1, A_2, A_3, B_1, B_2, C, D, E	24000	209	5	–	–	Чувствителен к ионам Са; A_1,A_2,A_3 при разделении кислотами теряют 6, 5 и 4 остатка гистидина
$\varkappa$- казеины	8–15	A и B	19000 без углеводов	169	1	–	2	Первичный субстрат для химозина, стабилизирует мицеллы казеина в присутствии ионов Са, содержит 0–5 CHO-групп
γ- и прочие казеины	3–7			–	–	–	–	С-терминальные сегменты β- и других казеинов, образующиеся в результате действия энзимов
Сыворот. белки:	15–22							
β-лактоглобулин	7–12	A, B, C, D, p	19300	162	–	2	1	Содержит активные SH-группы

Продолжение таблицы 2.1.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
α-лакт-альбумин	2–5	А и В	14200	123	–	4	–	Специфический белок в синтезе лактозы, некоторые минорные компоненты содержат СНО группы
Белки крови								
сывор. альбумин	0,7–1,3		66300	582		17	1	Белок сыворотки крови, микрогетерогенен
иммуноглобулины	1,9–3,3							
Ig-G_1	1,2–3,3		162000	мономер				IgG_1 и IgG_2 поступают из крови, IgGA существует самостоятельно или в комплексе с FSC; все гликопротеины, дисульфидные мостики играют роль на всех уровнях структуры
Ig-G_2	0,2–0,7		152000	мономер				
Ig A	0,2–0,7		400000	димер				
FSC (s)	0,2–0,3		80000	мономер				
протеозо-пептоны	2–6							Смесь фосфогликопротеинов, не осаждаемая в течение 20 мин при 95°С и pH 4,7 и осаждаемая 12% трихлоруксусной кислотой

В коровьем молоке присутствуют казеины четырех основных групп: α_{s1}-, α_{s2}-, β- и $\varkappa$-казеины. Кроме этого, в молоке имеется несколько минорных казеинов, большинство которых образовано в результате действия на основные казеины природной щелочной протеазы молока – плазмина. Они включают γ_1-, γ_2- и γ_3-казеины, протеозо-пептоны, образующиеся из β-казеина, λ-казеин, образующийся из α_{s1}-казеина, и 20–30 неидентифицированных пептидов [326].

Казеины фосфорилированы (в основном, фосфаты соединены с гидроксильными группами серина), что обусловливает наличие у них отрицательного заряда. Отрицательный заряд β-, α_{s1}- и α_{s2}-казеинов равняется соответственно минус 12, 15 и 21 мВ [253]. Из-за высокого содержания фосфора α- и β-казеины активно связывают Са и осаждаются при концентрации $CaCl_2$ больше 6 мМ (больше 66,6 г/100 кг молока).

$\varkappa$-Казеин имеет одну фосфатную группу, не связывает кальций и растворим при высоких его концентрациях. Он гидрофобно взаимодействует с другими казеинами и может предотвращать осаждение чувствительных к кальцию казеинов, масса которых в 10 раз выше его собственной [326].

Большое количество анионных групп в казеинах обусловливает высокую чувствительность их к pH, а наличие в полипептидных цепочках казеинов, в частности β-казеина, определяет наличие заряженных гидрофильных участков. В противовес им в цепочках имеются гидрофобные участки. Особенно сильной гидрофобностью отличается сегмент β-казеина от 30 до 209 остатка, благодаря наличию которого β-казеин в водных растворах легко образует зависимые от температуры ассоциации со степенью полимеризации до 40 мономеров [127, 1277].

Наличие SH-групп в составе α_{s2}- и $\varkappa$-казеинов повышает их реакционную способность, в частности создает возможность связываться с β-лактоглобулином после тепловой обработки молока. В цепочках казеинов относительно часто встречаются остатки пролина, которые повышают подвижность их молекул [127].

$\varkappa$-Казеины содержат до 5 остатков углеводов. Их С-терминальный сегмент (гликомакропептид, или просто макропептид – МП) имеет заряд минус 12 мВ и обладает сильными гидрофильными свойствами, обусловленными высоким содержанием оксиаминокислот и аминокислот кислого характера; N-терминальный сегмент гидрофобен.

2.3. Мицеллы казеина: состав, строение, свойства

Более 95% казеина в молоке находится в мицеллярной форме [326]. Мицеллы казеина – близкие к сферической форме частицы размером от 30 до 300 нм и молекулярной массой от $2{,}6 \cdot 10^7$ до $5 \cdot 10^9$ (чаще от $6 \cdot 10^8$ до $6 \cdot 10^9$) [127, 402, 1277, 1563]. Каждая мицелла содержит от нескольких тысяч до сотен тысяч молекул всех четырех типов казеинов. Шарообразная форма мицелл играет важную роль в обеспечении их высокой устой-

чивости, так как при одинаковой массе удельная поверхность минимальна у частиц шарообразной формы [1243]. В то же время, чем ниже удельная поверхность коллоидных частиц, тем ниже у них запас свободной энергии, тем выше стабильность при прочих равных условиях. Диаметр мицелл уменьшается при снижении в среде содержания неорганических компонентов, особенно кальция и фосфора [551]. Средний состав мицеллы показан в табл. 2.2 [1175].

Структура мицеллы казеина окончательно не установлена, несмотря на интенсивное ее изучение. Предложены два принципиальных типа модели мицеллы казеина: *каркасная* (скелетная) и *субмицеллярная* [402]. Согласно каркасной модели мицелла казеина представляет непрерывную трехмерную сетку свернутых полипептидных цепей α_{s1}-казеина, с которыми посредством мицеллярного фосфата кальция связывается *æ*-казеин; β-казеин удерживается на каркасе слабыми гидрофобными связями и может легко покидать мицеллу и снова в нее входить.

2.2. Состав мицеллы казеина коровьего молока при комнатной температуре

Компоненты	Содержание, г/100 г
α_{s1}-казеин	35,80
α_{s2}-казеин	9,90
β-казеин	33,60
æ-казеин	11,90
γ-, R-, S-,T_s-казеины	2,30
Общий казеин	93,50
Кальций	2,87
Магний	0,11
Натрий	0,11
Калий	0,26
Неорганический фосфат (PO_4)	2,89
Всего неорганических веществ	6,64

Субмицеллярная модель (рис. 2.1) полагает, что мицеллы составлены из сотен дискретных частиц – субмицелл диаметром 10–20 нм, в которых молекулы казеинов гидрофобно связаны друг с другом [127, 213, 402, 935, 1149, 1277]. Существуют два типа субмицелл: F_2 и F_3 (Ono & Tagaki, 1986; Ono & Obata, 1989; Aori, 1989 [402]). Субмицеллы F_2 состоят из α_{s1}- и *æ*-казеина, их диаметр равен 20 нм; субмицеллы F_3 диаметром 10 нм состоят из α- и β-казеинов. Субмицеллы удерживаются в составе мицелл, главным образом, коллоидным фосфатом кальция (ККФ).

Формы Са и фосфатов в мицелле говяжьего казеина приведены в табл. 2.3. В молоке в среднем содержится 30 мМ Са (120 г/100 кг) и 22 мМ $P_н$ (неорганического фосфора) (68 г/100 кг). В мицеллах содержится ~ 2/3 Са и 1/2 $P_н$; 20–38% (в среднем 30%) растворенного в молоке Са, или около 10% от общего содержания, находится в ионизированном виде [1230].

Са в мицелле представлен двумя формами: коллоидным (нерастворимым) фосфатом кальция (ККФ) и казеинатом кальция (органический Са) в примерном соотношении 3:1. P_o (органический фосфор) входит в состав казеина: остатки фосфорной кислоты ковалентно соединены с радикалами оксиаминокислот – серина и треонина.

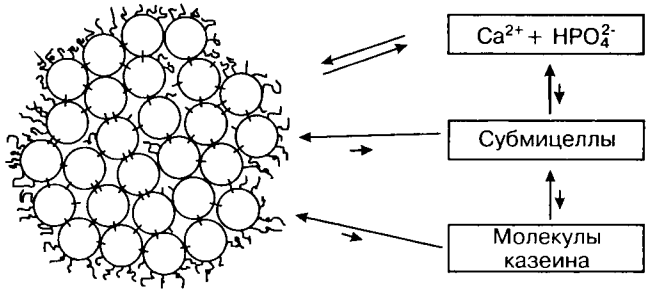


Рис. 2.1. *Модель казеиновой мицеллы, состоящая из сферических субмицелл, связанных друг с другом коллоидным фосфатом кальция, показывающая простирающиеся в среду цепочки макропептида ж-казеина. Приведены примеры обменных реакций мицеллы с внешней средой* [1149].

2.3. Формы кальция и фосфатов в мицелле говяжьего казеина [402]

Компонент	Форма	Состав
ККФ	Комплекс Са, Mg, $P_н$ и цитратов, связанный с казеином (КЗ) через фосфосерильные остатки. [Са]/[$P_н$] от 1:44 до 1:67	$3Ca_3(PO_4)_2CaHцитрат^-$ $Ca_9(PO_4)_6$
Казеинат Са	Прикреплен непосредственно к КЗ карбоксильными группами аспартатов и глютаматов	
$P_н$	Часть ККФ	
P_o	Фосфосерильные остатки КЗ	
МФК	Комплекс ККФ и P_o [Са]/[Р] примерно 1:1	КЗ P_o $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$

Обозначения: ККФ – коллоидный фосфат кальция; КЗ – казеин; $P_н$ – неорганический фосфор; P_o – органический фосфор; МФК – мицеллярный фосфат кальция.

ККФ – аморфный комплекс неорганического Са и Р с отношением Са к Р, равным примерно 3:2; в состав комплекса также входят Mg и цитраты. Весь $P_н$ мицеллы входит в ККФ. ККФ прикреплен к фосфосерильным остаткам казеинов через кальциевые мостики. Holt et al. (1989 г.) предложили ККФ, связанный с фосфосерильными группами казеинов (P_o), считать единым комплексом, назвав его мицеллярным фосфатом кальция (МФК). МФК находится в коллоидной форме и выделяется

вместе с казеином при осаждении и ультрацентрифугировании [402]. В этом случае Са и Р в мицелле будет находиться в двух формах: мицеллярного фосфата кальция (неорганический Са + неорганический и органический Р) и казеината Са.

Концентрация кальция в МФК не зависит от активности ионов Са в молоке, а в составе казеинатов Са (органический Са) зависит. Органический Са, наряду с растворенным в сыворотке Са, является источником ионов Са. Мицеллы начинают распадаться при удалении из них более 20% ККФ хелатными соединениями или повышением кислотности, а также повышением pH выше 9 мочевиной, солянокислым гуанидином или подобными агентами [326, 1778]. Органический Са играет роль в стабилизации мицелл.

Гидрофобные участки α-, β- и $\varkappa$-казеинов погружены внутрь субмицелл и образуют неполярное ядро субмицеллы. Полярные фосфосерильные группы α- и β-казеинов и почти не содержащий фосфатов гидрофильный гликомакропептид (МП) $\varkappa$-казеина, несущие отрицательные заряды, окружают ядро. Более гидрофобные F_3-субмицеллы расположены в ядре мицеллы, более гидрофильные F_2-субмицеллы – на поверхности. Цепочки МП $\varkappa$-казеина, соединенные с основной гидрофобной его частью связью между фенилаланином в положении 105 и метионином в положении 106 ($Фен_{105}$ - $Мет_{106}$), в виде ворсинок (волосков) выступают над поверхностью мицеллы. Удельный внутренний объем мицелл приблизительно равен 2,2 мл на г сухого веса, внешний (гидродинамический), включающий наружный ворсистый (волосообразный) слой, – около 3,9 мл/г [1148, 1149]. По другим данным, внешний удельный объем варьирует в интервале от 1,5 до 7,1 мл/г протеина, достигая максимума при pH 5,4 [402]. Таким образом, МП занимает довольно большое пространство. Изменение доли $\varkappa$-казеина на 1% изменяет диаметр мицеллы на 20%, поскольку при снижении дозы $\varkappa$-казеина на поверхности мицеллы образуются незащищенные от агрегации с другими мицеллами участки и мицелла начинает расти до тех пор, пока вся поверхность не будет защищенной (за счет снижения удельной поверхности) [1593].

Полярные участки полипептидных цепей субмицелл типа F_3 тоже выступают над поверхностью мицеллы и активно взаимодействуют с водной фазой молока [1149, 1175].

Мицеллы казеина отличаются высокой устойчивостью к нагреванию. Свежее молоко с pH 6,6–6,7 свертывается при 100° С за несколько часов, при 130° С – более чем за 20 мин, при 140° С – за 20 мин и 150° С – за несколько секунд [127, 1691]. Часть пептидных и фосфатных связей казеина разрушается даже во время нагревания молока до 95° С, что доказывается появлением в молоке свободного неорганического фосфата и увеличением содержания небелкового азота, но эта степень денатурации казеина недостаточна для агрегации мицелл и свертывания молока. Исследования японских ученых показали, что выдержка концентрированного (1:2,5) молока в течение 15, 75 и 135 с при 135–140° С вызывает дезинтеграцию мицелл казеина без свертывания молока [1175].

Мицеллы могут быть получены в виде гранул ультрафильтрацией молока с последующим восстановлением без каких-либо повреждений [1175]. Они не разрушаются при механической обработке молока, например, при гомогенизации.

Стабильность мицелл казеина обеспечивается гидратацией (сольватацией), поверхностным зарядом, стерической устойчивостью [213, 402, 1149]. Полярные группы α_s- и β- казеинов, МП $\varkappa$-казеина в мицелле взаимодействуют с растворителем, в результате вокруг мицеллы образуется гидратный слой, изменение величины которого в зависимости от pH показано на рис. 2.2 [402]. По Fox [326], в зависимости от температуры степень гидратации мицелл составляет от 0,5 до 4,0 г/г казеина, в среднем – 2 г/г.

Степень гидратации белков молока зависит от его тепловой обработки: для сырого молока она составила 2,29 г H_2O /г сухих веществ, после нагревания при 85° С в течение 10 мин – 3,44 г/г [478]. Обработка молока, подвергшегося и не подвергшегося нагреву, реннетом изменила степень сольватации соответственно до 2,64 и 2,78 г H_2O/г сухих веществ. Степень сольватации уменьшалась при снижении pH и зависела от вида кислоты, используемой для подкисления. По величине сольватации белков кислоты располагались в следующем порядке: уксусная > соляная > фосфорная > молочная. Подкисление молока, подвергнутого тепловой обработке, до pH 5,8–6,0 предотвращало его сычужную свертываемость.

Нет единой точки зрения на то, насколько прочно связана вода в мицелле казеина, хотя широкие колебания массовой доли влаги в мицелле свидетельствуют о том, что большая часть ее связана мицеллой непрочно. Тем не менее наличие вокруг нативной мицеллы гидратной оболочки из молекул воды, достаточно прочно удерживаемой полярными группами и в определенной степени придающей стабильность мицелле, не вызывает сомнений. Отщепление от $\varkappa$-казеина МП уменьшает величину гидратного слоя приблизительно в 1,5 раза (рис. 2.2).

В результате адсорбции ионов и ионизации остатков аминокислот на поверхности мицеллы казеина образуется отрицательный заряд (ζ-потенциал). Он невелик (от минус 8 до минус 20 мВ при pH 6,7 и 20° С), но достаточен для того, чтобы противостоять силе молекулярного притяжения между мицеллами казеина при их сближении [127, 326, 402, 1277]. Больше половины поверхностного заряда (примерно минус 12 мВ) обусловлено МП, выступающим над поверхностью мицеллы. Поверхностный заряд постепенно снижается при падении pH с 6,7 до 6,0, затем скорость его снижения резко возрастает при понижении pH до 5,4, после чего величина заряда начинает увеличиваться, пока pH не снизится примерно до 5,1. После этого заряд снова уменьшается при снижении pH и становится равным нулю при pH 4,6 (изоэлектрическая точка) [402]. Минимальное значение ζ-потенциала при pH 5,3–5,4 обусловлено адсорбцией ионов Ca мицеллами. Поверхностный заряд обеспечивает *электростатическую стабильность* мицеллы.

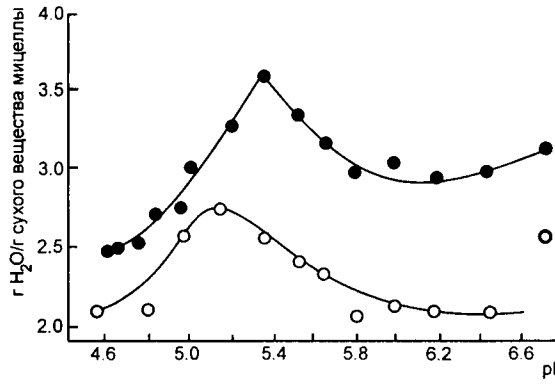


Рис. 2.2. *Сольватация казеиновых мицелл как функция pH при 20° С в обезжиренном молоке* (●) *и обезжиренном молоке, обработанном реннетом* (○) [402].

Стабильность мицеллы в молоке в основном обусловлена *æ*-казеином, в частности его гидрофильной частью – МП. При низком содержании *æ*-казеина на поверхности мицеллы остаются незащищенные участки и мицелла продолжает расти, при этом доля субмицелл, содержащих *æ*-казеин, в ядре мицеллы снижается, а размеры мицелл увеличиваются. Чем выше содержание *æ*-казеина, тем меньше размер мицелл при прочих равных условиях [1593].

Часть казеинов не входит в состав мицеллы. Этот казеин называется «растворимым»; он в основном представлен *β*-казеином и, вероятно, находится в молоке в виде мономеров. Массовая доля растворенного казеина в свежем молоке составляет 5–10% от общего содержания. Она увеличивается при снижении температуры молока и уменьшается при повышении концентрации ионов кальция и массовой доли *æ*-казеина. Часть казеина молока переходит в растворимую форму в результате высокотемпературной обработки молока [402, 1175, 1202].

Мицеллы казеина нестатичны. В молоке нормального состава они находятся в состоянии динамического равновесия со средой. Мицеллы подвержены многочисленным изменениям: от броуновского движения ворсистого внешнего слоя до диффузии ионов, молекул или их частей, как в мицеллу, так и из нее. Приблизительно 45% Са мицеллы может принимать участие в обменных процессах за 1 час и 63% – за двое суток (Yamauchi & Yoneda, 1977) [1593].

Если мицеллу раздробить, то ее фрагменты снова соединяются друг с другом с образованием частиц, подобных исходной мицелле [1148]. После разрушения мицеллы восстанавливаются за несколько минут, преимущественно за счет гидрофобных взаимодействий белков.

Выдержка молока в течение нескольких часов при низких температурах сопровождается потерей мицеллой части ККФ, значительного ко-

личества β-казеина, в меньшей степени $\varkappa$-казеина, но, как это ни парадоксально, повышает стабильность мицеллы по отношению ко всем видам свертывания. Выход части β-казеина из мицеллы при низких температурах может быть связан с ослаблением гидрофобных связей или диссоциацией части ККФ, или с обоими этими факторами [1149]. Между выходом из мицеллы β-казеина и коллоидного Са имеется связь (рис 2.3) [1593].

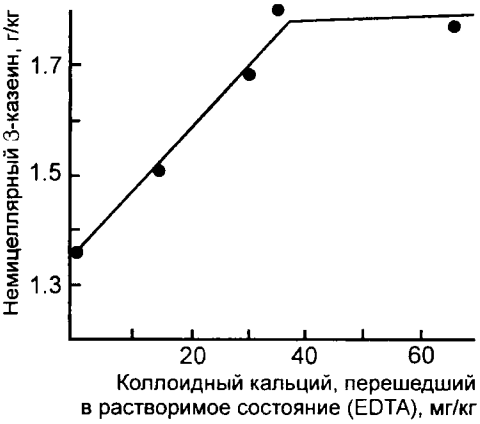


Рис. 2.3. *Зависимость между переходом в растворимое состояние мицеллярного кальция и β-казеина*

Выход из мицелл казеина белков во время хранения при низких температурах носит обратимый характер, хотя обратный процесс требует длительного времени и идет не до конца [1593]. Для восстановления минерального состава мицелл молока, выдержанного 48 ч при 2–4° С, требуется 18–24 ч при 20° С. Снижение pH также сопровождается солюбилизацией ККФ (рис. 2.4) [402].

Разноречивы данные о значении pH, при котором ККФ полностью растворяется: это или pH 5,2–5,3 при 20–30° С, или pH 4,9–5,0 при 0–20° С (Davies & White, 1986; Pyne & McGang, 1986). Из исследований Dalgleish & Law (1989) вытекает, что ККФ при 20° С полностью растворяется при pH 5,8. Различия в этих данных, очевидно, обусловлены различиями в методике исследований [402, 450].

После полного удаления ККФ в мицеллах остается 14–16% от общего содержания Са, который находится в форме казеината кальция. Этот Са можно удалить из мицеллы только после полного растворения ККФ [402]. Весь Са, но не весь P_o удаляется из мицеллы в изоэлектрической точке.

Параллельно с солюбилизацией ККФ при снижении pH из мицеллы в сыворотку выходят казеины в порядке: $\beta > \varkappa > \alpha$ [402, 1149]. Степень диссоциации казеинов зависит от pH и температуры (рис. 2.5) [402].

После достижения максимума степень диссоциации казеинов начинает снижаться и становится равной нулю в изоэлектрической точке. В интервале pH от 6,8 до 4,8 степень диссоциации казеинов увеличивает-

ся с понижением температуры от 35 до 4° С. Максимальное количество растворенного казеина при 4, 20 и 30° С равняется соответственно около 60, 30 и меньше 10% от его общего содержания в молоке [402].

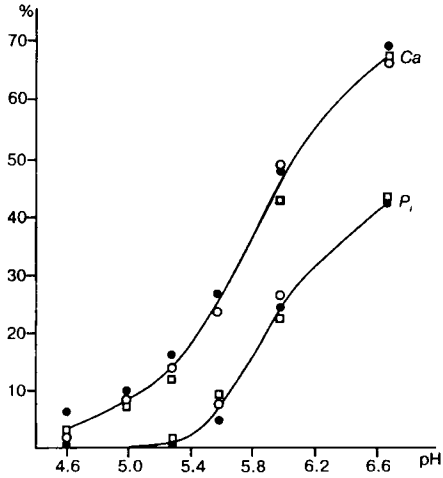


Рис. 2.4. *Содержание мицеллярного Ca и неорганических фосфатов в обезжиренном молоке как функция pH при 30 °C. Мицеллярный Ca и неорганический P (осаждаемый с казеином при центрифугировании при 88 000 g в течение 1,5 ч) в % от общего содержания Ca и P* [402]

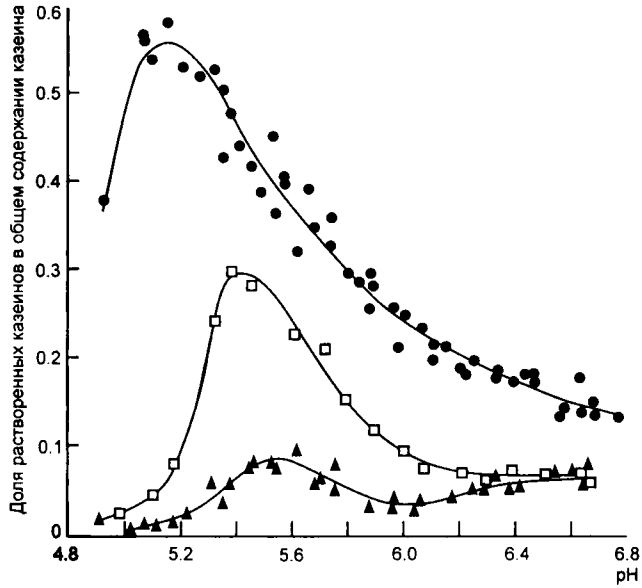


Рис. 2.5. *Количество растворенных казеинов в обезжиренном молоке (не осаждаемых центрифугированием при 70 000 g в течение 4 ч, 2 ч и 1,75 ч) при 4 °C (●), 20 °C (□) и 30 °C (▲), в зависимости от pH* [402].

Степень диссоциации различных типов казеинов в зависимости от температуры меняется неодинаково. Доля растворенного *æ*-казеина в интервале pH от 6,8 до 5,4 не зависит от pH, но в большой степени зависит от температуры: при 4, 20 и 30° С она равняется 8, 15 и 20% от общего содержания растворенного казеина. При дальнейшем снижении pH по направлению к изоэлектрической точке доля *æ*-казеина в содержании растворенного казеина при температурах больше 20° С снижается. Доли немицеллярных α_{s1}- и β-казеинов также не зависят от pH в интервале 6,8–5,4, но сильно зависят от температуры и составляют при 4, 20 и 30° С соответственно 8 и 75, 15 и 55, 55 и 25% [402]. Сильная зависимость степени диссоциации индивидуальных казеинов от температуры свидетельствует о различии их связей в мицеллах.

Диссоциация ККФ, очевидно, главная причина выхода казеинов из мицелл при снижении pH при температурах больше 20° С. Повышение температуры и pH увеличивает содержание в молоке ионизированного Са, а добавление воды, хлористого натрия, цитрата или других веществ, способных образовывать хелатные высокомолекулярные соединения, снижает содержание Са и Р в мицелле [1243].

Выход ККФ и казеинов из мицеллы сопровождается изменением ее параметров. Степень гидратации мицеллы немного снижается при понижении pH от 6,6 до 6,0, затем увеличивается, с достижением максимума при pH 5,3–5,4, когда весь ККФ выходит из мицеллы и диссоциация казеинов достигает максимума. Объяснить это можно тем, что выход казеинов из мицеллы увеличивает ее пористость, что способствует проникновению сыворотки в мицеллу. При дальнейшем снижении pH уменьшаются степень диссоциации казеинов, поверхностный заряд и степень гидратации мицеллы; последняя достигает минимума в изоэлектрической точке казеина [402]. Частичная замена кальция натрием при pH 6,6–6,5 увеличивает гидратацию.

При 30° С и pH 5,3 появляются мелкие мицеллы: субмицеллы, вышедшие из мицелл, или новые мицеллы, образовавшиеся из покинувших мицеллу казеинов. Пастеризация сырого молока (74° С, 30 с) не предотвращает миграцию β-казеина из мицеллы при 4° С [1130].

Описанные изменения в составе мицелл казеина характерны только для нативных мицелл; мицеллы после воздействия на них молокосвертывающих энзимов ведут себя по-иному (разд. 2.5).

2.4. Молокосвертывающие энзимы

2.4.1. Основные понятия, номенклатура

В предыдущем разделе показано, что главным фактором устойчивости мицелл казеина является *æ*-казеин, точнее его гидрофильная часть – макропептид (МП). Отщепление от мицелл МП снижает ζ-потенциал казеиновых мицелл с минус 10–20 мВ до минус 5–7 мВ, вызывает поте-

рю большей части гидратного слоя и ликвидирует ворсистый внешний слой мицелл, обусловливающий пространственную стабильность системы [326]. Заряд снижается пропорционально количеству гидролизованного *æ*-казеина. Мицеллы, от которых отщеплен гликомакропептид, называют *параказеиновыми*, или *параказеином*.

2.4. Номенклатура и источники молокосвертывающих энзимов [313]

Название	Название (МКФ)*	Другие названия	Источники
Пепсин	Пепсин А (ЕС 3.4.23.1)	Пепсин II	Жвачные, цыплята, свиньи
Гастриксин**	Пепсин С (ЕС 3.4.23.3)	Пепсин I Парапепсин II Пепсин В	Жвачные, свиньи
Химозин	Химозин (ЕС 3.4.23.4)	Реннин	Жвачные
M. miehei протеиназа (ММР)	(ЕС 3.4.23.6)	Реннилаза (*Novo*), Ханилаза (*Chr. Hansen*), Фромаза (*Wallerstein*), Марзим (*Miles*)	*Mucor miehei*
M. pusillus протеиназа (MPP)	(ЕС 3.4.23.6)	Емпораза (*Dairyland*), Мейто (*Meito Sango*), Ноури (*Vitex*)	*Mucor pusillus var. Lindt*
E. parasitica протеиназа (EPP)	(ЕС 3.4.23.6)	Супарен (*Pfizer*) Сур Курд	*Endothia parasitica*

* МКФ – Международная классификация энзимов (ферментов).

** Гастриксин отличается от других пепсинов и химозина, поэтому он помещен в отдельную группу.

Walstra et al. считают, что параказеиновая мицелла при комнатной температуре и pH 6,0–6,7 содержит примерно 1,4 г воды на г белка, в том числе связанной – менее 0,2 г на 1 г. Остальная влага просто впитана мицеллой и удерживается в ней за счет пространственного расположения молекул или частиц белка, зависящего от температуры и pH [1148]. При этом количество связанной параказеиновой мицеллой воды по сравнению с исходной мицеллой снижается незначительно (примерно на 3%), что повышает роль потери большей части заряда и пространственной устойчивости, связанных с отщеплением МП, в дестабилизации мицеллы при сычужном свертывании, по сравнению с потерей части гидратного слоя. Однако, по другим данным, и нативные, и параказеиновые мицеллы содержат больше воды, а параказеиновая мицелла содержит воды примерно на 30% меньше, чем нативная (рис. 2.2 [1175]). Поскольку снижение заряда и величины гидратного слоя в параказеиновой мицелле вызываются одним и тем же фактором – отщеплением МП от *æ*-казеина, – вторые данные можно считать более точными.

Параказеиновые мицеллы, в отличие от нативных, не теряют ККФ и казеинов при низких температурах и снижении pH до определенного уровня во время выработки сыра [326, 1148, 1149, 1593, 1778]. Это обеспечивает близкое родство структуры нативной и параказеиновой мицелл и самого сыра, позволяет получать высокий выход сыра. *Это одно из важнейших отличий сычужных сыров от кисломолочных.*

Гидролизовать *æ*-казеин с отщеплением МП могут многие протеолитические энзимы. Однако действие протеолитических энзимов не ограничивается отделением от мицеллы МП; они расщепляют белки молока и по другим связям, что приводит к разрушению трехмерной структуры и невозможности получения сгустка и сыра или к снижению выхода и появлению пороков органолептических показателей продукта, в частности горечи. Так, трипсин быстро образует сгусток, но почти так же быстро и растворяет его. Для сыроделия пригодны энзимы, быстро разрывающие связь между гидрофобной и гидрофильной частями *æ*-казеина ($Фен_{105}$-$Мет_{106}$) и не оказывающие отрицательного влияния на выход и органолептические показатели сыров. Энзимы, удовлетворяющие этим требованиям, называются «*молокосвертывающими ферментами*», хотя слово «ферменты» не совсем удобно, поскольку на французском и английском языках оно означает «закваска», «дрожжи» или глагол «бродить». Ферменты в нашем понимании за рубежом называются энзимами.

Перечень нашедших достаточно широкое применение в сыроделии молокосвертывающих энзимов приведен в табл. 2.4. Молокосвертывающий энзим, доминирующий в четвертом отделе желудка телят в возрасте до 14 дней, до недавнего времени занимал господствующее положение в сыроделии. Он получил название «*химозин*» от греческого слова «chyme», означающего «желудочный сок». На английском языке его называют «*реннин*» (от «реннет» – сычуг). Международная номенклатура энзимов рекомендует для него название «химозин», потому что реннин легко спутать с названием другого энзима – «ренин», образующегося в почках.

В коммерческих экстрактах из сычугов молодняка млекопитающих, именуемых «*сычужным ферментом*», или, что правильнее, «*сычужным порошком*», кроме химозина содержатся другие энзимы, главным образом пепсины. В английском языке эти препараты называют «*реннет*». В соответствии с техническими условиями доля молокосвертывающей активности сычужного порошка за счет пепсинов не должна превышать 30% от его общей молокосвертывающей активности. Доля химозина в экстрактах из сычуга уменьшается с возрастом: в экстрактах сычугов коровы его содержится в семь раз меньше, чем в экстрактах сычугов телят.

В связи с недостатком сычужного порошка в сыроделии начали широко применять другие препараты, которые можно разделить на две группы: *пепсины – желудочные протеазы* жвачных и некоторых других животных – и *кислые протеазы* микробиального происхождения. Из первой группы наибольшее распространение получили говяжий, свиной

и куриный пепсины. Пепсины чаще всего используют в виде смесей друг с другом или с сычужным порошком. Из микробиальных молокосвертывающих энзимов получили достаточно широкое применение только некоторые протеазы (MMP, MPP и EPP), образуемые плесневыми грибами (табл. 2.4).

Все более широкое применение получают препараты рекомбинантного химозина, получаемые с помощью микроорганизмов. Химический состав, степень использования белка и жира молока, органолептические показатели сыров, вырабатываемых с препаратами обычного и микробиального химозина из *Kluyveromyces lactis, E. coli и Asp. niger var. awamori,* идентичны [47, 94, 599].

Молокосвертывающие энзимы в международной классификации энзимов помещены в одну группу EC 3.4.23, хотя плесневые протеазы сильно отличаются от молокосвертывающих энзимов животного происхождения по специфичности и структуре [313, 326].

2.4.2. Свойства молокосвертывающих энзимов

Все молокосвертывающие энзимы, достаточно широко используемые в сыроделии, принадлежат к кислым протеазам, проявляющим максимальную активность в кислой среде. Они характеризуются высоким содержанием дикарбоновых аминокислот, низким содержанием основных аминокислот [313]. Их еще называют аспарагиновыми протеазами, потому что в их активном центре имеются два остатка аспартата [326]. Кислые протеазы содержат 325–360 аминокислотных остатков; молекулярная масса их находится в пределах 33000–38000. Молекулярные массы говяжьего химозина и свиного пепсина равны 35600 и 34600 соответственно.

Молокосвертывающие энзимы животного происхождения выделяются в виде проферментов, которые превращаются в активные энзимы путем отщепления от N-терминального конца ингибитора, содержащего около 45 аминокислотных остатков. Плесневые кислые протеазы образуются в активной форме [326, 1277]. Активизацию проферментов инициируют водородные ионы [213]. Активизация – процесс автокаталитический, протекает при pH 2,0–4,6. На молочные заводы препараты молокосвертывающих энзимов поступают в активной форме и концентрированном виде.

В природе нет энзимов, катализирующих разрыв только связи $Фен_{105}$-$Мет_{106}$ в $\varkappa$-казеине, но молокосвертывающие энзимы должны расщеплять эту связь во много раз быстрее, чем другие связи в протеинах молока, так как весь $\varkappa$-казеин должен быть гидролизован молокосвертывающими энзимами во время выработки сыра, иначе не произойдет коагуляция казеина или значительная часть казеина останется в сыворотке. Любая другая протеолитическая активность молокосвертывающих энзимов во время выработки сыра нежелательна, так как растворимые продукты протеолиза остаются в сыворотке, что снижает выход сыра. По-видимому, теряется для сыра и макропептид, отделяемый

от $\varkappa$-казеина в результате гидролиза молокосвертывающими энзимами, но с этим нужно мириться, так как без гидролиза $\varkappa$-казеина сычужный сыр выработать нельзя.

Способность быстро гидролизовать $\varkappa$-казеин – общее свойство молокосвертывающих энзимов, применяемых в сыроделии, – называют *молокосвертывающей активностью*, в отличие от способности расщеплять другие связи в белках, получившей название общей *протеолитической активности*. Общая протеолитическая активность молокосвертывающих энзимов по отношению к молокосвертывающей должна быть как можно более низкой.

Одна часть кристаллического химозина может свернуть 72 млн. частей молока при 35° С [221, 1358]. Химозин гидролизует в $\varkappa$-казеине связь $Фен_{105}$-$Мет_{106}$ в 200 раз быстрее, чем другие связи. Это обусловлено составом и последовательностью расположенных рядом с ней аминокислот [326]. $\varkappa$-Казеины женского и свиного молока вообще не содержат этой связи, но оба гидролизуются говяжьим химозином, хотя и медленнее, чем $\varkappa$-казеин коровьего молока. По данным Foltman с соавт., говяжий химозин свертывает коровье молоко в два раза быстрее, чем свиное, а свиной химозин свертывает свиное молоко в шесть раз быстрее, чем коровье [313].

Молокосвертывающие энзимы существенно различаются по отношению общей протеолитической активности к молокосвертывающей [313]. При оптимальном для каждого фермента pH и равной молокосвертывающей активности соотношение общей протеолитической активности (по гемоглобину) говяжьего химозина, говяжьего и свиного пепсина составило 1:3:6 [313]. На рис. 2.6 показан гидролиз казеина некоторыми молокосвертывающими препаратами при pH 5,5, близком к pH созревающих сыров и содержимому желудка телят в молочный период [1358]. Неспецифический протеолиз (избыточный по отношению к химозину) после 3-часовой инкубации составил для свиного пепсина 0,275 мг, для говяжьего – 0,10 мг, для смеси химозин + говяжий пепсин – 0,05 мг, что соответствовало 87,9; 30 и 12% к протеолизу под действием химозина. Химозин обладает самой низкой общей протеолитической активностью по отношению к молокосвертывающей активности.

Характер протеолиза в результате совместного действия молокосвертывающих энзимов и *Lc. lactis subsp. lactis* зависит от вида энзима: если содержание растворимого белка, пептидов и свободных аминокислот в обезжиренном молоке с сычужным порошком после роста молочного лактококка принять за 100%, то оно будет равно соответственно: в молоке со свиным пепсином 41,1; 105,5; 22,8%; с куриным пепсином 45,2; 125 и 17,7% [1221]. При замене сычужного порошка пепсинами содержание растворимых белков и свободных аминокислот в результате кооперативного протеолиза уменьшилось, а содержание пептидов увеличилось. Появление горечи в сырах связано с накоплением в них специфических пептидов.

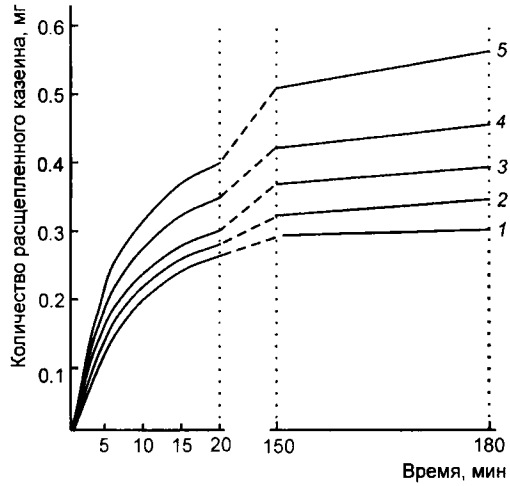


Рис. 2.6. *Сравнительные данные по гидролизу казеина при pH 5,5 (1 – реннин; 2 – реннин + бычий пепсин (1:1); 3 – бычий пепсин; 4 – реннин + свиной пепсин (1:1); 5 – свиной пепсин)*

Следует отметить более высокую общую протеолитическую активность промышленных препаратов сычужного порошка по сравнению с кристаллическим химозином (рис. 2.7), что обусловлено наличием в первых не только химозина, но и пепсинов. После расщепления *æ*-казеина и свертывания молока кристаллическим химозином содержание продуктов протеолиза практически не увеличивается, тогда как при использовании сычужного порошка их накопление идет интенсивнее до свертывания и продолжается после свертывания.

Более низкая общая протеолитическая активность химозина по сравнению с пепсинами имеет важное физиологическое значение, поскольку новорожденные в первый период жизни не имеют собственных защитных систем и нуждаются в нативных иммуноглобулинах молозива для защиты от инфекций [313].

Гидролиз других, чем *æ*-казеин, казеинов молокосвертывающими энзимами протекает во время созревания сыров. Исключением являются твердые сыры с высокими температурами II нагревания и с плавлением сырной массы, во время выработки которых молокосвертывающие энзимы полностью или частично разрушаются. Участие молокосвертывающих энзимов в протеолизе во время созревания сыра необходимо для формирования органолептических показателей созревающих сыров, но количественные и/или качественные отклонения от нормального хода протеолиза вызывают пороки вкуса и консистенции. Под нормальным протеолизом в сыроделии понимают протеолиз под действием химозина при характерных для сыра условиях.

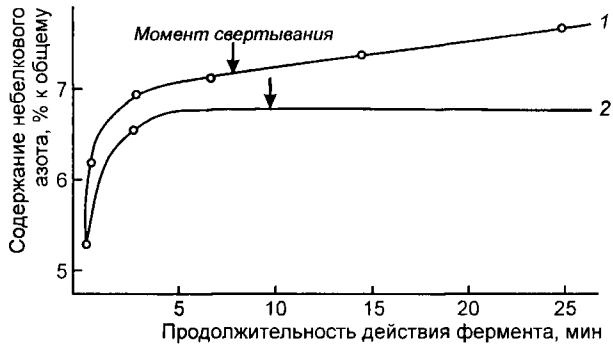


Рис. 2.7. *Изменение содержания небелкового азота в молоке под действием сычужного порошка фирмы «Хансен» (1) и кристаллического химозина (2)* [1429]

Более высокая общая протеолитическая активность молокосвертывающих энзимов по сравнению с химозином, как правило, оказывает отрицательное влияние на качество сыров, особенно с длительными сроками созревания. Например, потери молочного жира с сывороткой были выше, а плотность сгустка и качество сыра Чеддер ниже при использовании для свертывания молока пепсина вместо химозина [313]. Однако сыры, вырабатываемые с кристаллическим химозином, имеют менее выраженный вкус и медленнее созревают, по сравнению с сырами, вырабатываемыми из этого же молока и по этой же технологии, но с сычужным порошком. Следовательно, общая протеолитическая активность молокосвертывающих энзимов в определенной степени необходима для получения сыров высокого качества.

Химозин в растворе атакует α- и β- казеины, хотя они не имеют связи Фен-Мет [213]. Первичный участок расщепления β-казеина лежит на участке связей 189–193. Образующийся в результате разрыва связи фрагмент I-189 называют β-I казеином. Далее в результате разрыва связи 166–167 или 164–165 образуется β-II казеин, разрыв связи 139–140 дает β-III казеин. Пептиды образуются именно в этой последовательности, что может быть обусловлено различной скоростью атаки указанных связей или изменениями конформации β-казеина в процессе гидролиза. *В сырах химозин и пепсин не атакуют β-казеин*, что может быть связано с низкой активностью воды или иммобилизованным состоянием β-казеина [213].

Атака химозином α-казеинов направлена на связи, включающие фенилаланин или лейцин. Первичная атака на α-казеин направлена на связи $Фен_{24}$-$Фен_{25}$ или $Фен_{24}$-$Вал_{25}$ с образованием пептида α_{s1}-I казеина. Дальнейший протеолиз может идти в растворе и сыре с последовательным образованием пептидов II, III, IV и так до XX. Под действием химозина и свиного пепсина из α_s-казеина образуется α_{s1}-I пептид, но этот пептид далее расщепляется только химозином [1176].

Гидролиз α- и β-казеинов идет с гораздо более низкой скоростью, чем $\varkappa$-казеина, но благодаря длительности созревания и участия протеолитических энзимов микрофлоры закваски к концу созревания α_{s1}-казеин и часть β-казеина бывают расщеплены [213]. Пептиды, получающиеся в результате гидролиза казеинов молокосвертывающими энзимами, более доступны, чем исходный казеин, для протеолитических энзимов молочнокислой микрофлоры, которые играют главную роль в созревании твердых сыров. *Участие в созревании, т. е. в формировании характерных для сыров органолептических показателей, – вторая функция молокосвертывающих энзимов в сыроделии.*

Из молокосвертывающих энзимов по общей протеолитической активности ближе всего к химозину стоит говяжий пепсин, свиной пепсин обладает более высокой общей протеолитической активностью; наименее пригоден для сыроделия куриный пепсин [326]. Однако по другим данным, белый рассольный сыр, выработанный с цыплячьим пепсином или его смесью с реннетом, ничем не отличались от контрольных, выработанных только с реннетом, кроме более высокого содержания сухих веществ и общего азота [1121].

Плесневые протеазы по общей протеолитической активности отличаются от химозина и говяжьего пепсина, что отрицательно влияет на консистенцию сыров, вырабатываемых с их участием, оставляя ее приемлемой для потребителя. Сравнение протеолитической активности фромазы и сычужного порошка показано на рис. 2.8 (по материалам фирмы «Гист-Брокадес»). Количественные различия в протеолитической активности, оцениваемой по отношению небелкового азота к общему содержанию азота казеина, между реннетом и фромазой незначительны. Однако даже такие различия могут сказаться на выходе сыра и экономичности применения фромазы; кроме того, они могут отличаться по спектру образуемых продуктов гидролиза.

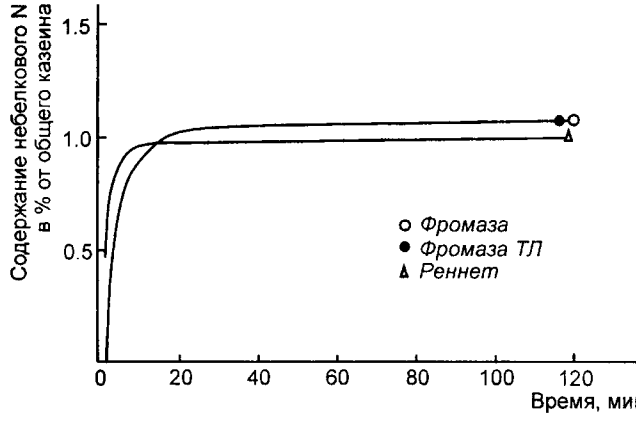


Рис. 2.8. *Протеолитическая активность реннета и фромазы*

Большинство авторов оценивают молокосвертывающие энзимы по продолжительности свертывания молока и технологическим свойствам сгустка, т. е. по наиболее важным для сыроделия показателям. Однако сычужное свертывание молока состоит из двух фаз, а молокосвертывающие энзимы принимают участие только в первой фазе. Зависимости между процессами в этих фазах и условиями среды далеко неодинаковы. Поэтому результаты опытов на молоке зависят от свойств не только молокосвертывающих энзимов, но и молока, и характеризуют систему молоко-энзим.

Многие авторы при изучении сычужной свертываемости молока используют промышленные препараты молокосвертывающих энзимов, являющихся смесью энзимов, количественный и качественный состав которых может отличаться от партии к партии. В этом случае результаты опытов характеризуют не энзим, а конкретную партию его препарата.

И, наконец, физико-химические факторы влияют как на скорость катализируемой реакции, так и на стабильность самого энзима, причем характер этого влияния на каждый процесс различается для разных энзимов. Протеолитическая активность энзимов в сырах может существенно отличаться от их активности в жидких средах. Так, сыры из молока, свернутого свиным пепсином, имеют удовлетворительные характеристики, потому что свиной энзим почти полностью инактивируется во время выработки сыров, и его высокая общая протеолитическая активность в сырах не реализуется [1176].

Степень участия молокосвертывающих энзимов в созревании зависит от того, сколько их остается в сыре. Количество химозина, остающегося в сыре, увеличивается при снижении pH сыворотки и сырной массы.

Оптимальный pH для общей протеолитической активности при прочих одинаковых условиях равняется для пепсинов 2, для гастриксина – примерно 3, химозина – 3–4, плесневых протеиназ – 3–4 [313]. Эти значения существенно отличаются от интервалов pH, характерных для производства сыров, что в определенной степени снижает отрицательное влияние на качество сыров повышенной, по сравнению с химозином, общей протеолитической активности кислых протеиназ, применяемых в сыроделии.

Стабильность молокосвертывающих энзимов зависит от ионной силы среды, температуры, продолжительности выдержки и концентрации энзимов [313]. Пепсин и химозин автолизируются при величине pH, оптимальной для их общей протеолитической активности. Плесневые протеиназы стабильны при pH до 2,5.

Общим свойством молокосвертывающих энзимов является снижение общей протеолитической активности при pH среды выше оптимального уровня. Одной из причин этого является инактивация энзимов при высоком pH. Скорость инактивации зависит от вида энзима (рис. 2.9) [1358]. Так, говяжий пепсин начинает инактивироваться после 20-минутной выдержки только при pH выше 6,4, а при pH 7,0 сохраняет более трети исходной активности. В то же время свиной пепсин после 20-ми-

нутной выдержки при pH 6,4 теряет свыше 50% исходной активности, а при pH 7,0 почти моментально полностью инактивируется. Для свертывания молока с pH 6,6 за 5 мин, требуется одинаковая масса говяжьего и свиного пепсина, а при свертывании за 20 мин, свиного пепсина требуется в 2,5 раза больше, чем говяжьего. Быстрая инактивация свиного пепсина в слабокислой среде, какой является молоко, является главным недостатком его как молокосвертывающего энзима.

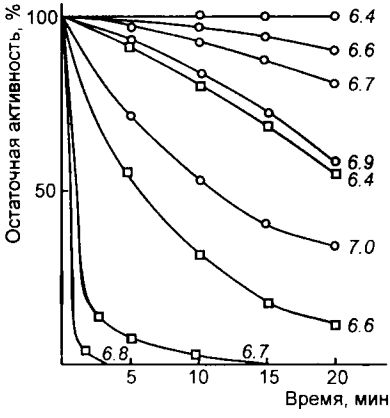


Рис. 2.9. *Зависимость устойчивости бычьего* (○) *и свиного* (□) *пепсина от pH при 35 °C*

Оптимальный pH для гидролиза *æ*-казеина химозином равен примерно 6,0, однако в интервале pH от 5,6 до 6,4 разница в скорости реакции невелика [450]; активность снижается при pH выше 6,5 с несколько меньшей скоростью, чем для говяжьего пепсина (рис. 2.10) [213, 1358, 1429]. В интервале pH 6,6–6,7, характерном для молока в начале выработки сыра, скорость гидролиза *æ*-казеина химозином остается достаточно высокой. Куриный пепсин, гастриксин, фромаза стабильны в диапазоне pH, характерном для выработки и созревания сыра [313, 1202].

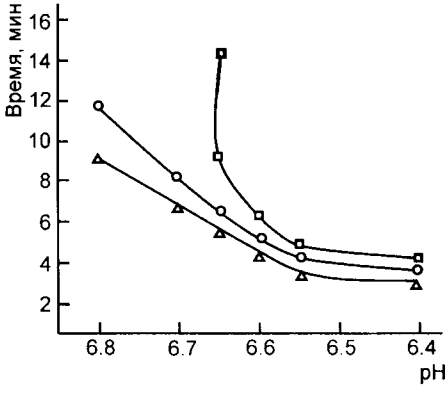


Рис. 2.10. *Зависимость молокосвертывающей активности ферментов от pH* (○ *– бычий пепсин,* △ *– реннин,* □ *– свиной пепсин)*

Молокосвертывающие энзимы различаются по отношению к температуре. Изменение молокосвертывающей активности фромазы и сычужного порошка в зависимости от температуры показано на рис. 2.11 (по материалам фирмы «Гист-Брокадес»). Отношение к температуре говяжьего пепсина почти такое же, как у сычужного порошка. В порядке возрастания устойчивости к нагреванию молокосвертывающие энзимы располагаются следующим образом: свиной пепсин, говяжий пепсин, химозин, фромаза и *M. pusillus* протеазы.

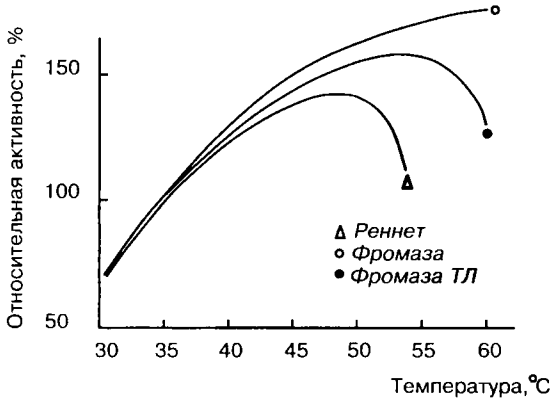


Рис. 2.11. *Влияние температуры на активность реннета и фромазы*

Устойчивость к нагреванию понижается при повышении pH. Молокосвертывающая активность сычужного порошка максимальна при 45° С, чистого пепсина – при 35° С.

Желудочные протеазы млекопитающих показывают различную чувствительность к мочевине: пепсин к ней устойчив, химозин нет. Эти различия используют для их идентификации.

Обработка молока для выработки сыра 0,01–0,15% перекиси водорода повышает активность молокосвертывающих энзимов и микрофлоры закваски, увеличение дозы перекиси до 0,03–0,15% оказывает ингибирующее действие [1357].

Исследования молокосвертывающей и общей протеолитической активности показывают явное преимущество химозина перед другими молокосвертывающими энзимами. Отношение молокосвертывающей активности к общей протеолитической у химозина равно 40:9, а у говяжьего пепсина 4:3, что свидетельствует о высокой общей протеолитической активности пепсина, а следовательно, о большей опасности появления пороков в сырах, выработанных с пепсином [213].

Продукты протеолиза β-казеина химозином и плесневыми протеиназами неодинаковы, за исключением одного пептида, однако они подобны, чего нельзя сказать о продуктах его расщепления протеиназой *E. parasitica*. Эти различия вызывают пороки органолептических пока-

зателей сыра и снижают его выход на 1–2%. Чем продолжительнее созревание сыра, тем больше вероятность появления посторонних привкусов и пороков в сырах, вырабатываемых с заменителями сычужного порошка. Способом предотвращения этого является использование смесей молокосвертывающих энзимов с более высокой и более низкой протеолитической активностью по сравнению с химозином. Низкую протеолитическую активность при производстве сыра проявляет свиной пепсин, так как значительная часть его после свертывания молока инактивируется.

Несмотря на одинаковый основной механизм коагуляции молока различными молокосвертывающими энзимами, структуры образуемых ими сгустков существенно различаются, и эти различия не исчезают во время созревания сыра и обусловливают специфичность консистенции сыров [271, 383, 384].

Исследование возможности использования в сыроделии вместо сычужного порошка экстракта цветов артишока *Cynara carbunculus* показало, что опытные сыры содержали меньше микроорганизмов родов *Enterobacterium, Lactococcus* и *Lactobacillus*, отличались менее активным протеолизом α- и β-казеинов, но в них было выше отношение водорастворимого азота к общему [991]. Однако главным недостатком этого энзима был горький вкус сыра [666].

2.4.3. Определение молокосвертывающей активности

Промышленное применение молокосвертывающих препаратов невозможно без количественной оценки их активности. Под активностью сычужного энзима обычно понимают количество частей молока, которое свертывается одной его частью при 35° С в течение 40 мин [1277]. Продолжительность сычужного свертывания зависит не только от концентрации и свойств энзима, но и от состава и свойств молока, поэтому в вышеуказанной формулировке оценивается активность не энзима, а системы энзим-субстрат, в которой обе стороны вариабельны.

Существует, по крайней мере, два принципиальных способа оценки молокосвертывающей активности самого энзима: по количеству гидролизованного $\varkappa$-казеина и по количеству образующихся продуктов гидролиза $\varkappa$-казеина. Определение количества $\varkappa$-казеина очень сложно, так как он состоит из нескольких компонентов, степень гликолизации которых варьирует в широких пределах [213]. Количественное определение пара-$\varkappa$-казеина много проще, так как все гликолитические остатки $\varkappa$-казеина входят в состав МП, а пара-$\varkappa$-казеин проявляется на электрофотограмме в виде одной полосы. $\varkappa$-Казеин единственный из казеинов имеет положительный заряд при близком к нейтральному уровню pH и движется в обратном, по сравнению с другими казеинами, направлении. Пара-$\varkappa$-казеин в отличие от других казеинов осаждается в отсутствии ионов Са, что может быть использовано для его идентификации. Изоэлектрическая точка пара-$\varkappa$-казеина наступает при pH больше 5,0, а нативного $\varkappa$-казеина – 4,6. Для идентификации МП можно использо-

вать осаждение белков молока 2% раствором трихлоруксусной кислоты, так как МП в этих условиях не осаждается. Однако методы количественного определения пара-$\varkappa$-казеина или МП все же слишком сложны для заводских условий.

Молокосвертывающую активность энзимов определяют по сравнению с эталонным препаратом химозина или другого молокосвертывающего энзима, используя в качестве субстрата стандартный препарат обезжиренного молока. Во ВНИИМС разработана технология и организовано производство «Отраслевого стандартного образца (ОСО) сычужного порошка (эталона)» и «Субстрата сухого стандартизированного для определения молокосвертывающей активности ферментных препаратов» (Субстрат-СТ.3 по ТУ 10.02.943). Активность эталонного препарата сычужного порошка, 1 мл 1 %-ного раствора которого свертывает 100 мл восстановленного стандартного препарата обезжиренного молока при 35° С за 7,5 с, принята равной 100 000 тыс. условных ед. Процедура сравнительного определения молокосвертывающей активности энзимов изложена в ТУ 10-02-864-89 «Сычужный порошок. Технические условия». Молокосвертывающую активность исследуемого этим методом образца сычужного порошка (X) в условных ед. определяют по формуле:

$$X = Э \cdot T_1 / T_2, \qquad (2.1)$$

где Э – установленная активность ОСО сычужного порошка, усл. ед.; T_1 – продолжительность свертывания раствора стандартного субстрата (ССО) отраслевым стандартным образцом (ОСО) сычужного порошка, с; T_2 – продолжительность свертывания раствора стандартного субстрата (СС) исследуемым образцом сычужного порошка (или другого молокосвертывающего энзима), с.

Во ВНИИМС разработана и применяется методика автоматического определения активности молокосвертывающих препаратов с использованием в качестве субстрата сильно разбавленного молока, что позволяет фиксировать скорость только энзиматической фазы сычужного свертывания, менее зависимой от качества молока, чем стадия флокуляции [1677].

Разработан метод определения доли пепсина в сычужном порошке, основанный на оценке молокосвертывающей активности испытываемого сычужного порошка и этого же порошка после обработки мочевиной при определенном уровне pH. Обработка мочевиной полностью ингибирует химозин.

2.4.4. Приготовление рабочих растворов

Молокосвертывающие энзимы поступают на сыродельные заводы в концентрированном виде. Перед использованием их разбавляют водой в зависимости от исходной активности в 20–40 раз для того, чтобы более равномерно распределить в молоке. Как только энзим разведут в воде, его активность начинает снижаться, поэтому рабочие растворы энзимов готовят не раньше чем за 20–30 мин до использования. Количество энзима, которое нужно внести в молоко, определяют исходя из

планируемой продолжительности и температуры свертывания молока (25–35 мин для полножирных и 30–40 мин для сыров пониженной жирности при 32–36° С). Использование воды с температурой выше 45° С приводит к снижению активности энзимов, плотности сгустка, качества и выхода сыра. Детали определения требуемого количества энзима приведены в технологических инструкциях по производству сыров.

Если сычужная проба покажет низкую способность молока к свертыванию (сычужновялое молоко), то такое молоко лучше не перерабатывать на твердые сыры. При необходимости его переработки увеличивать скорость свертывания нужно повышением дозы закваски или хлористого кальция, но не молокосвертывающего энзима, большое количество которого может вызвать горечь в сыре.

Особое внимание необходимо уделять качеству воды для приготовления растворов энзимов. Вода должна иметь pH не выше 6,6, так как в более жесткой воде активность молокосвертывающих энзимов, особенно химозина и свиного пепсина, снижается. Жесткую воду следует подкислять до pH 6,4–6,5. Оноприйко рекомендует растворять молокосвертывающие энзимы в электролитически активированной воде с pH 2,5–2,7 [1551]. Нельзя использовать для приготовления растворов молокосвертывающих энзимов, а также для мойки посуды, хлорированную воду, так как в присутствии хлора активность энзимов быстро снижается.

Жидкие препараты молокосвертываюших энзимов необходимо хранить при низких положительных температурах для предотвращения размножения в них микроорганизмов. Известны случаи загрязнения сыров через сычужный энзим микроорганизмами, вызывающими пороки продукта [1013]. Davis считает, что препараты сычужного энзима с посторонними запахами нельзя применять в производстве, так как запахи косвенно свидетельствуют о развитии микрофлоры в препаратах [221].

Выбор молокосвертывающего энзима зависит от вида сыра: чем длительнее срок созревания сыра, тем большее значение имеет общая протеолитическая активность энзима и выше опасность появления обусловленных ею пороков.

Большое влияние на качество сыра оказывает наличие нерастворимого осадка в сухих препаратах молокосвертывающих энзимов. Количество пепсинов, захватываемое сгустком, пропорционально содержанию этого осадка [1652]. Чем хуже очищены энзимы, тем выше содержание нерастворимого осадка, тем большее количество пепсинов попадет в сгусток, тем выше будет степень неспецифического протеолиза и вероятность возникновения горечи в сырах.

2.4.5. Иммобилизованные энзимы

Молокосвертывающие энзимы стоят дорого, поэтому ведется поиск путей снижения их расхода. Одним из таких путей является иммобилизация энзимов – закрепление их на твердом носителе в колоночном реакторе. Через колонку с иммобилизованным энзимом непрерывно

пропускают предназначенное для выработки сыра молоко. За время прохождения молока через колонку происходит гидролиз *æ*-казеина. Для того чтобы молоко не свертывалось в реакторе, его охлаждают до температуры ниже 15° С, а при выходе из реактора быстро нагревают для получения сгустка. Реакторы такого типа нашли достаточно широкое применение в других энзиматических производствах. Анализ возможности их использования в сыроделии сделал Dalgleish [213].

Эксперименты показали, что скорость гидролиза *æ*-казеина пепсином, связанным с носителем – декстраном, снижается с увеличением размеров декстраново-пепсиновых комплексов. После полной иммобилизации пепсина скорость гидролиза становится очень низкой. Это происходит потому, что мицеллы казеина слишком велики по размеру и диффундируют в направлении к иммобилизованному пепсину с низкой скоростью. Только очень продолжительная выдержка молока с иммобилизованным химозином обеспечивает гидролиз достаточного для свертывания молока количества *æ*-казеина.

Нужно иметь в виду, что молокосвертывающие энзимы играют важную роль в созревании сыров, поэтому какая-то их часть обязательно должна находиться в свободном виде в молоке и из молока переходить в сыры. Протеолиз в сырах, выработанных с применением иммобилизованного химозина, идет с более низкой скоростью, чем в традиционных [1772]. В зрелом Голландском брусковом сыре, выработанном по традиционной технологии, содержание растворимого азота в 1,27, а аминного азота в 1,82 раза выше, чем в сырах, выработанных с иммобилизованным сычужным энзимом. Изменилось соотношение между свободными аминокислотами в опытных и контрольных сырах.

В производстве белого рассольного сыра использовали обычный сычужный порошок и иммобилизованный на шариках альгината Са сычужный энзим [919]. Сычужные сгустки, полученные под воздействием иммобилизованного энзима, имели более плотную консистенцию и пониженную вязкость. Выход сыра в опыте снизился с 14,6 до 11,8%.

2.5. Сычужное (энзиматическое) свертывание молока

2.5.1. Общие понятия

Сычужное (энзиматическое) свертывание молока – первая стадия выработки сычужных сыров. Оно состоит из двух процессов:

- *расщепления æ-казеина на гидрофильный макропептид (МП) и гидрофобный пара-æ-казеин*, в результате которого дезактивируются системы, обеспечивающие устойчивость мицеллы;
- *флокуляции (агрегации) дестабилизированных параказеиновых мицелл*, в результате которой казеин из состояния золя переходит в состояние геля и образуется сгусток.

Первый процесс идет под действием молокосвертывающих энзимов и получил название *первичной, или энзиматической фазы*. Это реакция первого порядка, поскольку способность к диффузии мицелл казеина слишком мала по сравнению с подвижностью молекул молокосвертывающих энзимов.

Окончание этой фазы определяют по прекращению изменений в молоке, вызываемых расщеплением *к*-казеина химозином, например, по прекращению увеличения содержания небелкового азота.

Второй процесс идет без участия молокосвертывающих энзимов, в присутствии ионов Са, и называется *вторичной (неэнзиматической) фазой*.

Дудник и Табачников разделили процесс сычужного свертывания молока на четыре стадии: *индукционный период* (лаг-фаза), который оканчивается с началом хлопьеобразования, наблюдаемого визуально; *стадия флокуляции*, заканчивающаяся образованием сгустка; *стадия метастабильного равновесия*, прекращающаяся с началом синерезиса, и *синерезис* (рис. 2.12) [1364].

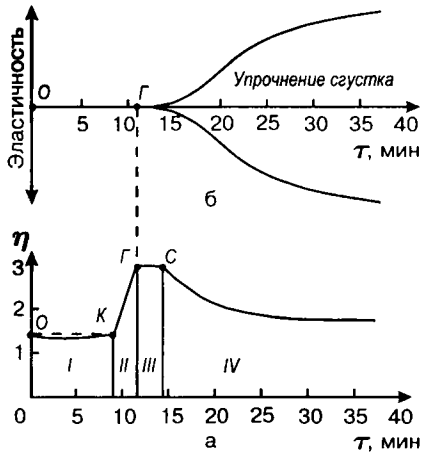


Рис. 2.12. *Реограмма (а) и эластограмма (б) процесса сычужного свертывания молока (I – индукционный период; II – стадия флокуляции; III – метастабильное равновесие; IV – синеретическая стадия; О – внесение сычужного фермента; К – начало явной коагуляции; Г – гель-точка; С – начало синерезиса)*

Вторая и третья стадия разделяются так называемой *гель-точкой*, положение которой определяется образованием минимального количества межмицеллярных связей, которое достаточно для образования пространственной структуры – сгустка. До гель-точки система сохраняет свойства золя, после гель-точки образуется гель – единая пространственная система, обладающая упругими свойствами. Участок реограммы О–К соответствует первой части фазы (до расщепления 85% *к*-казеина); участок К–Г–С – вторая фаза сычужного свертывания молока. Участок Г–С характеризуется укреплением межмицеллярных связей и усилением упругих свойств пространственной системы. В точке С начинается расслоение системы на твердую и жидкую (сыворотка) фазы. *Время достижения гель-точки называют временем сычужного свертывания (ВСС).*

2.5.2. Первичная (энзиматическая) фаза

Основные изменения в молоке после внесения в него молокосвертывающих энзимов показаны на рис. 2.13 [1148]. Отщепление от мицеллы МП сопровождается снижением ее заряда примерно в два раза, уменьшением радиуса мицеллы примерно на 5 нм и вязкости молока [213]; гидродинамический объем мицеллы снижается до 2/3 от ее величины для нативной мицеллы; количество связанной мицеллой воды при pH 6,6 уменьшается почти в 1,5 раза [1148, 1243]. Энзим как бы «сбривает» волосообразный внешний слой мицеллы казеина (разд. 2.3). Снижение поверхностного заряда ослабляет электростатические, а удаление части гидратной оболочки и внешнего слоя, образуемого МП, – стерические (пространственные) факторы стабилизации мицелл, в результате чего мицеллы теряют устойчивость.

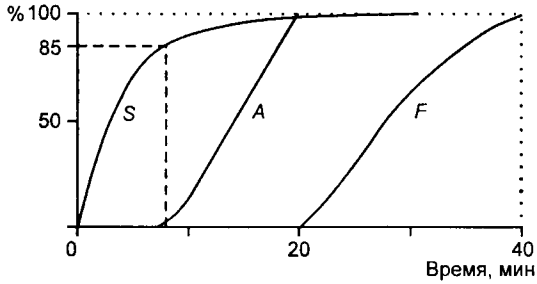


Рис. 2.13. *Изменения в молоке после добавления реннета (S – степень расщепления æ-казеина; A – агрегация параказеиновых мицелл, определяемая по оптической плотности; F – прочность сгустка (предел текучести), в % от их значений спустя 40 мин после внесения энзима)*

Гидролиз æ-казеина начинается сразу после внесения в молоко молокосвертывающих энзимов [1677]. Визуально, свертывание молока становится заметным после расщепления 80–85% æ-казеина (точка K на рис. 2.12), т. е. вторая фаза начинается до окончания первой (энзиматической) фазы. Начало флокуляции характеризуется повышением вязкости. Следует отметить, что небольшое изменение вязкости, улавливаемое вискозиметрами с чувствительностью более 0,01 Па·с, происходит во время индукционного периода: после внесения энзима вязкость снижается, что сопровождается небольшим увеличением степени дисперсности казеиновых частиц, затем вязкость повышается примерно до начальной величины к концу индукционного периода. Раманаускас объясняет первоначальное снижение вязкости распадом внутренних упорядоченных структур казеиновых мицелл, существовавших до внесения в молоко молокосвертывающих энзимов [1610]. Повышение вязкости, начинающееся примерно с середины индукционного периода, он связы-

вает с началом агрегации параказеиновых мицелл. Таким образом, он считает, что первая и вторая фазы сычужного свертывания идут одновременно, по крайней мере, со второй половины первичной фазы. Ранее эта же мысль была высказана голландским ученым Пайенсом, который считал, что флокуляция идет сразу после внесения в молоко молокосвертывающего энзима со все возрастающей скоростью; нарастание скорости обусловлено увеличением количества параказеиновых мицелл и числа эффективных соударений мицелл друг с другом [1563].

Если принять среднюю молекулярную массу мицеллы казеина равной $8 \cdot 10^8$, содержание $\varkappa$-казеина в мицелле – 11,9% и молекулярную массу его – 19000, то на каждую мицеллу приходится 5100 молекул $\varkappa$-казеина. Индивидуальные мицеллы могут связываться с другими мицеллами после расщепления 97% входящего в их состав $\varkappa$-казеина, т. е. после разрыва примерно 5000 связей. Для образования комплекса из двух мицелл нужно расщепить 10 тыс. связей. При обычно используемой дозе химозина в сыроделии на одну молекулу энзима приходится около ста мицелл казеина [1148]. Ясно, что для подготовки их к флокуляции нужно время. Это и объясняет некоторое запаздывание начала второй фазы относительно первой. Кроме того, повышение вязкости молока при незначительном числе агрегированных мицелл не улавливается современными методами. Правильнее считать, что энзиматическое свертывание молока состоит не из двух фаз, а двух процессов, идущих параллельно, но с некоторым запозданием процесса агрегации параказеиновых мицелл. Точка же К – не начало, а самый разгар флокуляции, когда образовавшиеся комплексы параказеиновых мицелл становятся видимыми невооруженным глазом. Под микроскопом начало флокуляции можно увидеть значительно раньше. С помощью нефелометрических методов McMahon et al. также установили, что флокуляция начинается значительно раньше появления хлопьев, наблюдаемых визуально [710].

Энзиматическую и неэнзиматическую фазы сычужного свертывания можно разобщить, используя температурный фактор: первая фаза сычужного свертывания идет даже при 0° С, но обязательно в присутствии молокосвертывающего энзима, а вторая фаза идет без участия молокосвертывающих энзимов, но только в присутствии ионов Са, и прекращается при температуре ниже 15° С [213, 326]. Это различие используют на практике. Для получении сгустка непрерывным способом в производстве некоторых сыров (например, Камамбера) первую фазу проводят при низких температурах, затем молоко в теплообменниках непрерывного действия нагревают до температуры 30–34° С, при которой оно быстро свертывается; образовавшийся сгусток направляют в сырные формы для самопрессования.

Проведение первой фазы при низких температурах увеличивает продолжительность выдержки молока с молокосвертывающими энзимами и позволяет снизить их дозы, однако этот прием редко применяют в промышленности, так как длительная выдержка молока с энзимом даже

при низких температурах может отрицательно сказаться на выходе и качестве сыра из-за размножения психротрофной микрофлоры и бактериофагов микрофлоры заквасок. Такой метод свертывания уменьшает степень протеолиза и ухудшает качество сыра за счет снижения выраженности сырного вкуса, появления более плотной, иногда мучнистой консистенции [1429]. По-видимому, снижение времени выдержки геля при температуре свертывания не дает возможности окончательно сформироваться его структуре и замедляет накопление биомассы микрофлоры заквасок, которая будет достигать максимума в сыре позднее, чем обычно, когда температура для действия ее энзимов будет менее благоприятна.

Кинетика гидролиза $\varkappa$-казеина молокосвертывающими энзимами подчиняется закону Михаэлиса-Ментен [213]. В соответствии с этим для нее будет справедливо уравнение:

$$V = -d[S]/dt = V_{max}\,[S]/(K_m + [S]), \qquad (2.2)$$

где V – скорость гидролиза в данный момент; V_{max} – максимальная скорость при неограниченной концентрации субстрата (зависит от концентрации энзима); $[S]$ – концентрация субстрата и K_m – константа диссоциации комплекса энзим-субстрат (от $7 \cdot 10^{-6}$ до $5 \cdot 10^{-4}$ моль на л). Если $[S]$ много больше, чем K_m, то реакция следует кинетике нулевого порядка по отношению к субстрату, что может быть в начале реакции. Если, наоборот, K_m намного больше $[S]$, то реакция следует кинетике первого порядка.

В этом уравнении $V_{max}\,[S]$ можно заменить выражением «$K_{кат}\,[E]$», в котором $[E]$ – концентрация энзима, $K_{кат}$ – константа катализа. В молоке K_m намного больше $[S]$, поэтому уравнение (2) для молока можно записать в виде:

$$V = V_{max}\,[S]/K_m = K_{кат}\,[E]/K_m \qquad (2.3)$$

Из уравнения следует, что скорость первой фазы энзиматического свертывания молока пропорциональна концентрации молокосвертывающего энзима и отношению $K_{кат}/K_m$.

2.5.3. Вторичная (неэнзиматическая) фаза сычужного свертывания. Образование и строение сычужного сгустка

Целью сычужного свертывания молока является перевод казеина, молочного жира и части других компонентов молока в такое состояние, в котором они могут быть отделены от большей части сыворотки сравнительно мягкими физико-химическими методами. Во время первой фазы мицеллы казеина лишаются устойчивости, во второй фазе осуществляется собственно переход мицелл казеина из состояния золя в состояние геля, т. е. молоко коагулирует. Это первый этап концентрирования белков и жира молока.

Способность молока коагулировать под действием некоторых энзимов лежит в основе технологии всех сычужных сыров. Это одна из первых стадий его переваривания и в организме, способствующая более

медленному прохождению молока по пищеварительному тракту и более полному его усвоению. В сыроделии на этой стадии важно не просто получить сгусток, но получить его с определенным составом и свойствами. Сгусток должен удерживать возможно большее количество казеина и жира молока, при последующей обработке хорошо отдавать сыворотку, образовывать минимальное количество мелких частиц (так называемой «*сырной пыли*»), остающихся в сыворотке, и иметь определенный состав и структуру. Эти свойства сгустка во многом определяются временем сычужного свертывания, скоростью его упрочения и конечной прочностью. От этих свойств сгустка зависят выход и качество сыра. Для того чтобы выработать сыр с хорошими вкусом и консистенцией, нужно прежде всего получить хороший сгусток.

Образование сычужного сгустка заключается в агрегации (соединении) параказеиновых мицелл. В предыдущем разделе показано, что видимая коагуляция молока начинается после гидролиза примерно 85% *к*-казеина; индивидуальная мицелла принимает участие в образовании сгустка, когда около 97% входящего в ее состав *к*-казеина будет гидролизовано [326]. Снижение pH и повышение температуры свертывания, по сравнению с обычно применяемыми в производстве сыра уровнями этих величин (6,6–6,5 и 30–34° С), делает возможным коагуляцию молока при более низкой степени гидролиза *к*-казеина, но в этом случае сгусток не будет обладать свойствами, которые обусловливают возможность его трансформации в высококачественный сычужный сыр.

Скорость флокуляции возрастает в течение ~ 2 ч после добавления молокосвертывающего энзима и достигает максимума к концу первичной фазы (рис. 2.14). В начале агрегации мицеллы казеина чаще всего образуют цепочки, в которых они являются звеньями, соединенными с соседними в нескольких точках поверхности. Затем площадь контактов увеличивается и цепочки постепенно переходят в пряди шириной в 1–4 и длиной до 10 мицелл [213, 1132, 1149]. В отличие от цепочек, ширина прядей по всей длине выравнивается за счет расширения участков соединения мицелл. К началу образования видимого невооруженным глазом сгустка пряди связываются друг с другом поперечными связями с образованием мелкоячеистой негомогенной структуры с диаметром ячеек до 10 мкм и с порами размером около 0,5 мкм. Стенки ячеек образованы агрегированными параказеиновыми мицеллами, имеющими спиралеобразную форму. В местах соединения прядей образуются узлы [1617]. Внутри ячеек содержатся жировые шарики и вода с растворенными веществами (сыворотка). В сгустках обезжиренного или частично обезжиренного молока размеры ячеек не уменьшаются; в этом случае они заполняются сывороткой [1149]. Далее площадь контакта мицелл друг с другом увеличивается; они образуют конгломераты, между которыми образуются поры до 10 мкм в диаметре, а затем конгломераты постепенно сливаются в сплошную массу параказеина. Весь сгусток как бы становится гигантской параказеиновой «мицеллой» с многочисленными

порами. Процесс слияния мицелл друг с другом продолжается от нескольких часов до суток [1148, 1149]. Казеиновый каркас обеспечивает прочность и жесткость сгустка, спиралеобразная форма казеиновых прядей смягчает жесткость и придает сгустку упругость.

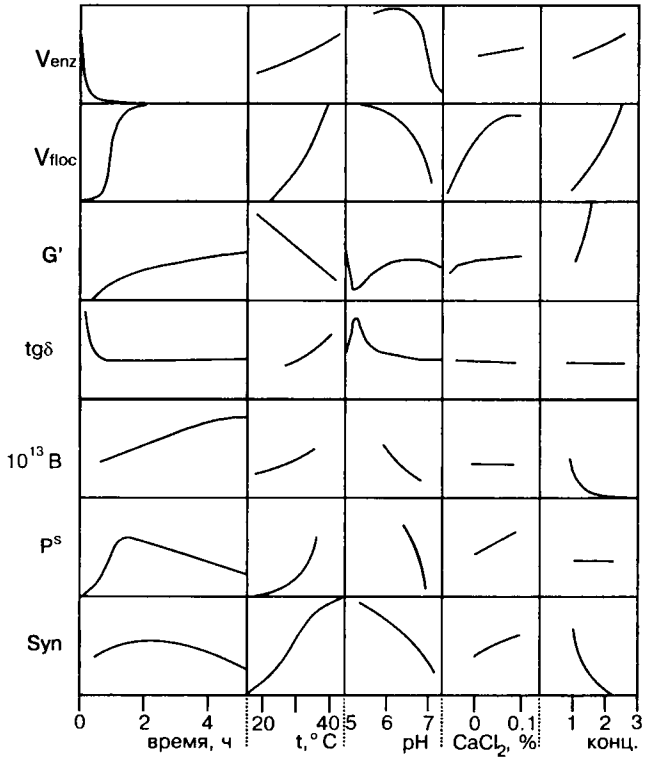


Рис. 2.14. *Влияние времени, прошедшего после добавления молокосвертывающего энзима, температуры, pH, дозы $CaCl_2$ и степени концентрирования молока ультрафильтрацией на скорости первой (V_{enz}) и второй (V_{floc}) фазы сычужного свертывания молока, модули упругости (G′, Па), тангенс потерь (tgδ, масштаб времени в с), коэффициент проницаемости (B, m^2), эндогенное давление синерезиса (P^s, Па) и начальную скорость синерезиса (Syn)* [1149]

Размеры ячеек зависят от размеров жировых шариков, так как в каждой ячейке сгустка из цельного молока содержится как минимум один жировой шарик. Сгусток из гомогенизированного молока состоит из более мелких и близких по размерам ячеек.

Жир при низких температурах увеличивает прочность сгустка. При более высоких температурах, в том числе при температурах созревания твердых сыров (13–16° С и выше), жир в ячейках находится в жидком состоянии, что уменьшает прочность и эластичность сгустка, но придает ему определенную пластичность, поскольку жидкий жир является отличным пластификатором. Благодаря жиру и воде сгусток и вырабатываемый из него сыр являются телами, обладающими вязкоэластичными свойствами. Жир как бы служит шарнирной опорой казеиновому каркасу, не ограничивающей перемещения казеиновых прядей относительно друг друга [380].

Жировые шарики с рекомбинированной оболочкой после гомогенизации молока, могут также участвовать в формировании матрицы сгустка, поскольку в состав их оболочек включается казеин [1132, 1149, 1608].

Прочность и жесткость сгустков из обезжиренного молока определяется казеиновым каркасом. Такой сгусток представляет собой относительно мягкое твердое тело, способность сопротивляться внешним нагрузкам которого характеризуется модулем упругости или жесткости [845].

Казеиновый каркас (матрица) сгустка, как все подобные структуры, обладает способностью к самопроизвольному сжатию, в результате которого возникает разность давлений внутри и снаружи ячеек (давление синерезиса), вызывающая выделение из него сыворотки. Увеличение до определенного предела прочности сгустка, обусловленное увеличением количества и прочности связей между элементами сгустка, повышает давление синерезиса и скорость выделения сыворотки из сгустка. Недостаток и непрочность внутри- и межмицеллярных связей снижает прочность сгустка. Такой сгусток обычно называют «слабым». Часть ячеек в нем во время обработки может быть разрушена, что увеличивает потери жира и казеина с сывороткой, а небольшое давление синерезиса замедляет выделение сыворотки и, следовательно, обсушку зерна.

2.5.4. Свойства сычужного сгустка и факторы, влияющие на его формирование

Структурно-механические свойства

Качество сычужного сгустка прежде всего характеризуется механическими показателями: твердостью, упругостью, эластичностью, пластичностью, вязкостью. Твердость – это способность тела сопротивляться сжатию; упругость – способность быстро возвращаться в исходное состояние после снятия нагрузки; жесткость – сопротивляемость деформациям сдвига; эластичными называют тела, способные под действием внешних сил к большим остаточным деформациям, которые в отличие от упругих деформаций исчезают после снятия нагрузки не сразу, а в течение определенного, иногда довольно продолжительного времени; пластичность – способность к необратимым деформациям, т. е. к деформациям, которые остаются после снятия нагрузки; вязкость характеризует способность жидких и твердых тел сопротивляться перемещению одного слоя по отношению к другому под действием внешних сил; текучесть –

свойство, противоположное вязкости, обладающее им тело при постоянном напряжении непрерывно деформируется; прочность определяется минимальными напряжениями, при которых структура разрушается.

Механические свойства определяются химическим составом геля, взаимосвязью компонентов геля друг с другом, количеством и прочностью связей между ними, т. е. составом и структурой геля, в связи с чем эти свойства обычно называют структурно-механическими. Количественно они характеризуются реологическими показателями. Реологические показатели характеризуют связь между напряжением (отношением внешних сил к площади поперечного вектору этих сил сечения) и величиной вызываемых этими напряжениями относительных деформаций. Так, сопротивляемость сдвигу характеризуется модулем сдвига (G), который равняется отношению напряжения сдвига (δ) к деформации сдвига (γ); вязкость – коэффициентом вязкости, равным отношению напряжения сдвига к скорости деформации (j). Сычужный сгусток обладает вязкоэластичными свойствами, т. е. обладает свойствами твердого и жидкого тела, поэтому для характеристики его свойств нужны несколько реологических показателей. Чаще всего для этого используют модуль сдвига и коэффициент вязкости. Существует корреляционная связь между эффективной вязкостью и модулем сдвига, поэтому по изменению этих величин можно судить об изменении прочности сгустка [402].

Изменение константы увеличения вязкости при сычужном свертывании молока, в зависимости от ряда факторов, показано в табл. 2.5.

***2.5. Влияние различных факторов на константу скорости увеличения вязкости при сычужном свертывании молока* [1610]**

Факторы	Константа скорости увеличения вязкости, определенная на «Реотест-2»	
	Эффективная, $с^{-0,5}$	Истинная, $Па^{-1} \cdot с^{-1,5}$
Добавлено соли в молоко, %		
0,0	0,819	350
0,3	0,633	235
0,7	0,564	194
Титруемая кислотность молока, °Т		
17	0,875	291
20	1,316	390
22	1,770	525
Температура пастеризации молока,°С		
72	0,769	291
80	0,706	217
85	0,733	200

Структурно-механические свойства молочных сгустков характеризуют модулем упругости G' (модуль запаса) и модулем потерь G'', кото-

рые определяют с помощью динамического реометра с коаксиальным цилиндром как функцию вызываемой деформации от круговой частоты колебаний [1149]. G' – мера энергии, запасаемой и отдаваемой материалом в каждом цикле колебаний; G'' – количество энергии, теряемой в процессе деформации в виде тепла. G' относится к эластичной, G''– к вязкостной части реакции геля на прикладываемое напряжение [1132, 1149]. G' можно назвать модулем эластичности. Тангенс потерь ($\mathrm{tg}\delta = G''/G'$) характеризует степень твердообразности материала: для упругого тела он равен нулю, для вязкой жидкости – бесконечности. Тангенс потерь – мера времени существования связей протеин-протеин в матрице геля. Чем выше тангенс потерь, тем с большей вязкостью реагирует гель на прикладываемое напряжение. По этим характеристикам можно вычислить динамическую вязкость $\Pi' = G''/\omega$, время релаксации напряжений при данной частоте колебаний равно $2G'/G''\cdot\omega$.

Величины модулей, а следовательно, прочность сгустка зависит от количества, прочности и времени релаксации связей. Для очень маленьких и быстрых деформаций (область линейных упругих деформаций) зависимость модулей от главных факторов можно выразить уравнением:

$$G = \Sigma c_i \cdot N_i \cdot (d^2F/dx^2)_i, \qquad (2.4)$$

где c – характеристика длины связей, определяемая геометрией сгустка; N – количество связей на единицу поверхности поперечного сечения и dF – изменение свободной энергии при расхождении элементов, которые скрепляются связями, на расстоянии dx; i – типы связей [1149].

Для гелей из дискретных частиц dF^2/dx^2 характеризует прочность связей, поскольку изменение энтропии для этих типов гелей незначительно. Такие факторы, как силы притяжения ван дер Ваальса, водородные связи, гидратационное отталкивание, конформационная энтропия, определенно играют роль в конформации казеиновых мицелл, но важность их пока не выявлена. Водородные связи образуются главным образом при связывании воды.

Исследования голландских ученых показали, что в сычужном сгустке относительная деформация пропорциональна прилагаемому напряжению только до тех пор, пока она не достигнет величины 0,03, что подтверждает мицеллярное строение сгустка, так как гели из макромолекул ведут себя по-иному [1149]. Предел текучести его намного меньше 1 Па, что свидетельствует о наличии остаточных деформаций при очень малых напряжениях.

В табл. 2.6 показаны основные связи, принимающие участие в формировании молочных сгустков (внутримицеллярные и межмицеллярные).

Изменения модуля G' и тангенса потерь молочных сгустков показаны на рис. 2.14, 2.15 и 2.16. Сразу после образования сгустков величина G' очень мала, что объясняется небольшим количеством связей между агрегированными параказеиновыми мицеллами в этот момент. По мере старения сгустка величина модуля растет почти линейно по отношению

к логарифмической шкале времени вплоть до 6–9 ч, затем появляется плато (~180 Па), а после примерно 12 ч G' начинает снижаться. Параллельно с G' увеличивается и уменьшается G''. Величина модулей возрастает вначале за счет увеличения числа связей, затем также за счет изменения характера связей: простые солевые мостики (электростатическое взаимодействие) заменяются мостиками с участием МФК. Однако незначительные изменения тангенса потерь, которые могут вызываться неоднородностью сгустка, свидетельствуют о небольшом изменении характера связей по мере старения сычужного сгустка, так как тангенс потерь характеризует природу связей, в особенности релаксацию.

2.6. Основные типы связей в молочных сгустках [1132, 1184]

Типы связей	Сычужный сгусток, pH 6.65	Кислотный сгусток, pH 4.60
Гидрофобные взаимодействия	+	+
Электростатические притяжения: через участки, заряженные разноименно («+» и «–»)	±	+
через мицеллярный Са фосфат	+	–
отталкивания	+	±
Прочие (силы ван дер Ваальса, водородные связи и др.)	?	?

Примечания: «+» – наиболее важные; «±» – важные; «–» – не выявлены; «?» – роль не выявлена.

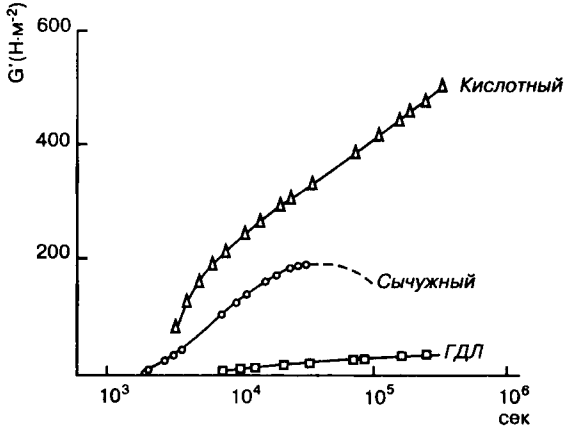


Рис. 2.15. *Изменение модуля запаса G′ как функция времени старения T = 30 °C; ○ – сычужный сгусток; △ – кислотный сгусток; □ – сгусток, полученный подкислением молока глюконо-δ-лактоном (ГДЛ)* [1132]

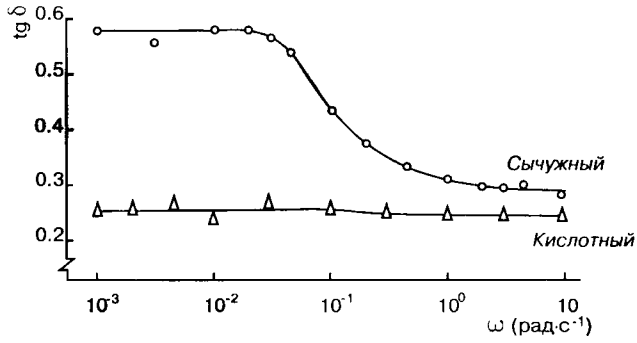


Рис. 2.16. *Изменение тангенса потерь сычужного и кислотного сгустков как функция ω (круговая частота колебания, рад $с^{-1}$);. Т = 30 °С. Возраст сычужного сгустка (с момента внесения энзима) – 6 ч, кислотного – 16 ч* [1132]

Повышение температуры сгустка после его образования снижает величины модулей G' и G'', определяемых по достижению ими постоянных значений после выдержки сгустка при новой температуре (в пределах одного часа) [1132, 1149]. Снижение тангенса потерь и повышение модулей свидетельствует о *повышении упругости и прочности сгустка при снижении температуры.* Эти изменения полностью обратимы.

Снижение прочности сгустка увеличивает его потери с сывороткой и уменьшает синерезис во время его обработки. Однако снижение прочности сгустка происходит не раньше, чем через полчаса после повышения температуры, а в начальный период модули увеличиваются. В связи с этим повышение температуры сгустка во время его обработки (II нагревание) не отражается на его технологических свойствах.

Снижение содержания мицеллярного фосфата кальция (МФК) уменьшает величины модулей, что подчеркивает важность осуществляемых с участием МФК внутримицеллярных связей в формировании прочности сгустка.

Тангенс потерь возрастал с увеличением времени деформации: он равнялся 0,28 при 0,1 с и 0,55 при 100 с. Это указывает на то, что при увеличении времени деформации сгусток становится более вязким (с увеличением времени деформации G' и G'' уменьшались) [1149].

Разрушение сычужного сгустка наступает при относительной деформации между 1,2 и 1,6 (табл. 2.7). Разрушающее напряжение для сычужного сгустка, характеризующее его прочность, увеличивается со снижением времени деформации: оно равно $2 \cdot 10^4$ Па при времени деформации 10^{-7} с, 160 Па – при 1 с, 85 Па – при 30 с и 17 Па при 10 мин [1148].

Доза молокосвертывающего энзима

Обычно в молоко для выработки твердых сыров вносят такое количество молокосвертывающего энзима, чтобы свертывание произошло

примерно за 30 мин. Необходимое для этого количество энзима в значительной степени зависит от физико-химических свойств молока. Методика его определения с помощью прибора «кружка ВНИИМС» изложена в Сборнике технологических инструкций по производству твердых сычужных сыров. Обычно на 100 кг молока вносят примерно 2,5 г препарата с активностью 100 тыс. условных ед. При необходимости ускорения этой фазы, например, при переработке сычужновялого молока, дозу энзима, по сравнению с указанной, стараются значительно не повышать. Это связано с тем, что чем выше доза сычужного порошка, тем больше химозина останется в сыре, тем интенсивнее будет протекать неспецифический протеолиз, от масштабов которого зависит качество сыра; в частности, это может способствовать появлению в сырах горечи. Так, сыр Чеддер, выработанный с применением повышенных доз сычужного порошка, на ранних стадиях созревания имел отличный вкус и эластичную консистенцию, а к концу созревания вкус его стал горьким, консистенция – мажущейся, пастообразной [1176]. Свертывание сычужновялого молока можно ускорить некоторым повышением степени зрелости молока, температуры свертывания, доз закваски и $CaCl_2$.

2.7. Свойства гелей обезжиренного молока, полученных с помощью молокосвертывающих энзимов (pH 6,6) и кислот (pH 4,6) при 30 °C [1149]

	Тип геля	
	сычужный	кислотный
Предел текучести (Па)	<<1	= 1 ?
Тангенс потерь (за 10^2 с) (–)	0,6	0,25
Напряжение разрушения (за 10 мин) (Па)	10,0	100
Деформация при разрушении (–)	1,6	0,5
Коэффициент проницаемости B (мкм^2)	0,2	0,15
dB/dt (нм^2/с$^{-1}$)	20	<1
Скорость синерезиса (условных ед.)	15	<1
Эндогенное давление синерезиса (Па)	1	<<1

В отличие от скорости энзиматической фазы, скорость второй фазы не зависит от концентрации молокосвертывающего энзима [213, 1612]. Это понятно, так как вторая фаза начинается после того, как почти весь $\varkappa$-казеин уже расщеплен. Однако, если использовать низкую концентрацию молокосвертывающего энзима, то казеин выпадает в осадок без образования геля, или гель распространяется не на весь объем молока [1148]. По-видимому, это обусловлено незаконченностью первой фазы из-за низкой концентрации молокосвертывающих энзимов.

Скорость сычужного свертывания

Молоко должно быстро свертываться после внесения в него молокосвертывающих ферментов, так как именно в этом случае образуется

прочный сгусток, хорошо удерживающий жир и отдающий сыворотку [380]. Ованова обнаружила тесную корреляционную связь, близкую к функциональной (r = –0,96), между временем сычужного свертывания молока и прочностью образующегося сгустка, которую она оценивала по нарастанию предельного напряжения сдвига [1546]. Сгусток из молока с низкой сычужной свертываемостью не только медленно образуется, но и обладает малой прочностью, так как сычужновялое молоко имеет низкое содержание казеина и Са (содержание Са коррелирует с содержанием казеина), а чем ниже содержание казеина в молоке, тем меньше будет связей между параказеиновыми мицеллами в сгустке. Смешивание сычужновялого молока с молоком с нормальной свертываемостью и кислотностью в равных отношениях не полностью ликвидирует недостатки сычужновялого молока, несмотря на увеличение кислотности смеси. Следовательно, причины плохого сгустка в таком молоке лежат не просто в низкой его кислотности, а в изменении содержания и свойств казеина. Время свертывания сычужновялого молока в четыре раза выше, чем молока с нормальной сычужной свертываемостью [1593].

Температура свертывания

Зависимость скоростей первичной и вторичной фаз сычужного свертывания молока от температуры показано на рис. 2.14. В диапазоне физиологических температур скорости увеличиваются с повышением температуры.

Скорость первичной фазы (V_{enz}) равна $K_{кат}$ $[E]/K_m$ (уравнение 3). В интервале температур от 25 до 40° С значение $K_{кат}$ удваивается (Garnier, 1963), а значит, в два раза сокращается продолжительность первой фазы при прочих равных условиях. Повышение температуры с 20 до 42° С уменьшило продолжительность индукционного периода с 36 до 11 мин, или в 3,27 раза, а продолжительность стадии флокуляции – с 12,5 до 1,8 мин, или в 6,94 раза [1364]. При таком повышении температуры доля индукционного периода во времени сычужного свертывания молока (ВСС) увеличилась с 53,3 до 71,3%, доля стадии флокуляции снизилась с 18,5 до 11,7%. По Краюшкину, температурный коэффициент энзиматической фазы сычужного свертывания Q_{10} равен примерно 2, а коагуляционной стадии – больше 10 [1452]. Это означает, что температура гораздо сильнее влияет на скорость второй (неэнзиматической) фазы. В диапазоне температур от 30 до 44° С кривые продолжительности индукционного и флокуляционного периодов имеют точку перегиба при 42° С, соответствующую минимуму функций при использовании сычужного порошка и пепсинов [1761]. Наличие точки перегиба при 42° С свидетельствует о том, что влияние температуры на сычужное свертывание молока неоднозначно. Отрицательное влияние температур выше 42° С на сычужное свертывание молока вызвано постепенной инактивацией энзимов.

Скорость вторичной фазы (V_{floc}) резко снижается, приближаясь к нижней температуре, при которой может происходить коагуляция мо-

лока, и при температуре ниже 15° С становится равной нулю. Раманаускас полагает, что агрегация параказеиновых мицелл идет и при температуре ниже 15° С, но с очень низкой скоростью из-за того, что эта стадия сычужного свертывания характеризуется наиболее высокой энергией активации [1610]. Если энергия активации первой фазы равна 12,9 ккал/моль, то для второй фазы она равняется 43,8 ккал/моль [713, 1279]. Особенно быстро скорость формирования сгустка увеличивается при повышении температуры от 15 до 30° С [1243]. В опытах Раманаускаса и Урбене повышение температуры свертывания с 20 до 32° С сократило время сычужного свертывания в 4,8 раза [1617]. При температуре выше 50° С скорость агрегации приближается к теоретическому максимуму, рассчитываемому по уравнению Смолуховского, и становится независимой от температуры [1148]. Однако, по другим данным, максимальная скорость флокуляции так же, как и первой фазы реакции, наблюдалась при 42° С [1364, 1761]. Различия в этих данных, скорее всего, обусловлены разной продолжительностью наблюдений, так как при температурах выше 42° С, как указывалось выше, происходит постепенная инактивация молокосвертывающих энзимов. Минимальные продолжительности индукционного периода и стадии флокуляции при 42°С наблюдали и другие авторы [1761].

В опытах Раманаускаса и Урбене прочность сгустка при повышении температуры свертывания с 20 до 32° С возрастала [1617], что согласуется с возрастанием числа гидрофобных связей, играющих особо важную роль в строении сгустка (табл. 2.6). В опытах Шингаревой повышение температуры свертывания молока в интервале 30–42° С при использовании в качестве коагулянта сычужного порошка, ферментных препаратов ВНИИМС, ФП-6 и ФП-7 увеличивало прочность сгустка и скорость синерезиса, но уменьшало степень использования сухих веществ молока и жира [1760].

Температура и ВСС молока во время выработки сыра устанавливаются с учетом обеспечения наиболее благоприятных условий для развития необходимой микрофлоры и получения требуемых органолептических показателей сыра, поэтому используют такие концентрации энзима, которые обеспечивают свертывание молока при производстве сычужных сыров при температуре 30–34° С в течение, примерно, 30 мин. Увеличение продолжительности свертывания, как указано выше, может привести к снижению прочности сгустка и скорости синерезиса. Повышение концентрации энзимов сверх установленной дозы вызывает горечь в сырах, повышение температуры свертывания интенсифицирует рост вредной и замедляет развитие необходимой микрофлоры. Однако в определенных пределах концентрацию энзимов и температуру свертывания используют для управления процессами выработки сыра. Несостоятельны попытки повысить температуры свертывания в производстве мелких сыров выше 42° С без изменения состава закваски, потому что максимальные температуры для лактококков и лейконостоков, используемых для выработки этих сыров, равны 37–40° С.

Роль кальция и фосфатов

Кальций не участвует в энзиматической фазе сычужного свертывания, однако изменение его содержания в среде может изменить физико-химические условия. Повышение количества вносимого в молоко $CaCl_2$ с 0 до 40 г/100 л снизило продолжительность индукционного периода с 14,69 до 4,21 мин, т. е. в 3,5 раза, стадии флокуляции – в 3,7 раза, метастабильного равновесия – в 2,7 раза, т. е. $CaCl_2$ оказал влияние на все стадии сычужного свертывания [1364]. По Patel et al., внесение ионов Са в молоко уменьшает время сычужного свертывания и прочность сгустка через 20 мин (K_{20}), которые достигают минимума при 0,01 мМ Са; при высоком содержании Са (0,54мМ) значения этих величин повышаются [822]. $CaCl_2$ может оказать влияние на сычужное свертывание молока через содержание Ca^{2+} и изменение pH молока. При поддержании pH на постоянном уровне, добавление к молоку $CaCl_2$ в обычных дозах мало влияет на первую фазу сычужного свертывания [1184], что хорошо видно на рис. 2.14. Следовательно, добавление к молоку $CaCl_2$ оказывает влияние на энзиматическую стадию через снижение pH молока.

Вторая фаза – флокуляция может проходить только при наличии в молоке определенного количества ионов Са. Нормальная концентрация Ca^{2+} равна 11 мг/100 г; молоко с содержанием меньше 8 мг/100 г Ca^{2+} является сычужновялым. При увеличении содержания Ca^{2+} в молоке выше этого уровня время свертывания снижается пропорционально концентрации ионов.

Во время пастеризации концентрация ионов Са в молоке снижается за счет перехода части растворенного в молоке фосфата Са в нерастворимую форму и выпадения в осадок в составе так называемого «молочного камня». В молочный камень переходит из молока около 7,5% фосфатов, 16% Са и Mg [214]. В молоке, пастеризованном при 72° С в течение 20 с, содержание Ca^{2+} снижается по сравнению с его содержанием в исходном молоке на 15,2% [1605]. Это немного замедляет свертывание молока и скорость упрочения сгустка.

Влияние пастеризации на кинематические характеристики сычужного свертывания молока приведены в табл. 2.5 и 2.8 [1610, 1605]. О скорости флокуляции в этих опытах судили по скорости увеличения вязкости. Из приведенных в табл. 2.8 данных видно, что пастеризация и хранение пастеризованного молока оказали отрицательное, а созревание, особенно пастеризованного молока с закваской, – положительное влияние на константы скорости увеличения вязкости. Положительный эффект, очевидно, связан с повышением активной кислотности молока во время созревания.

Для восстановления сычужной свертываемости пастеризованного молока в него вносят хлористый кальций. Зависимость времени сычужного свертывания молока от концентрации $CaCl_2$ Климовский выразил уравнением:

$$K \cdot C = (T_0 - T)/T, \text{ где} \qquad (2.5)$$

T_0 – продолжительность свертывания молока сычужным порошком без добавления $CaCl_2$, мин; T – продолжительность свертывания молока с добавлением $CaCl_2$, мин; C – концентрация $CaCl_2$, г/100 л; K – коэффициент солевого эффекта сычужного свертывания, величина постоянная для данного молока.

2.8. Влияние подготовки молока на его сычужную свертываемость

Вид молока	Константы скорости увеличения вязкости			
	при агрегации параказеина (по «Реотесту-2»)		сгустка (по прибору «Тромб»)	
	Эффект. $K_3 c^{-0,5}$	Истинная $K_3 Па^{-1} с^{-1,5}$	Эффект. $K_4 c^{-0,5}$	Истинная $K_4 \cdot 10^5$ $Па^{-1} с^{-1,5}$
Сырое	0,730	301	0,222	0,1208
Пастеризованное (72° С, 15–20 с)	0,628	258	0,217	0,1140
Сырое после созревания	0,752	313	0,242	0,1241
Пастеризованное после хранения	0,606	243	0,210	0,1080
Пастеризованное после созревания с закваской	1,017	399	0,237	0,1180

Уравнение справедливо при концентрации хлористого кальция от минимального уровня, при котором начинается коагуляция молока, до 56 г/100 л молока [1184, 1358, 1546]. На рис. 2.14 показано графически влияние количества добавляемого $CaCl_2$ на скорость вторичной фазы сычужного свертывания молока, которая практически перестает увеличиваться при увеличении количества вносимого в молоко $CaCl_2$ до 0,05% [1149]. Подобный результат получен и другими исследователями [710]. Продолжительность свертывания пастеризованного по обычному режиму молока (72° С, 20 с) можно восстановить добавлением в него 0,056 г/л $CaCl_2$ (Humberi & Alais, 1975) [1593].

Роль ионов Ca^{2+} в образовании сгустка состоит в том, что они осуществляют перекрестные связи мицелл друг с другом через фосфосерильные остатки казеинов. Возможно также, что положительно заряженные ионы Ca^{2+} нейтрализуют остатки поверхностного заряда [326, 1184, 1271], а следовательно, способствуют снижению гидратного слоя, который частично сохраняют параказеиновые мицеллы (рис. 2.2). При внесении в молоко больше 50 мМ $CaCl_2$ поверхностный заряд мицелл казеина меняется на положительный и между ними снова возникают силы отталкивания, пропорциональные количеству внесенного в молоко $CaCl_2$. О неизбежности перехода изоточки казеина в щелочную зону при увеличении содержания ионов Са в молоке писал Глаголев еще в 1958 г. [1271].

Добавление $CaCl_2$ к молоку повышает модуль эластичности (G') (рис. 2.14) и прочность сгустка [1149, 1184, 1364, 1538, 1593]. Одна и та

же эластичность сгустка была достигнута при добавлении в молоко 10, 20, 30 и 40 г/100 л $CaCl_2$ соответственно через 28, 21, 14 и 11 мин. Эластичность сгустка в конце его формирования сильно увеличивалась при добавлении к молоку от 0 до 30 г/100 л $CaCl_2$, но практически не изменилась при дальнейшем повышении его дозы до 40 г/100 л. По Раманаускасу и Урбене, эффективная вязкость сычужного сгустка повышается при добавлении к молоку до 0,08% $CaCl_2$ [1617]. Дальнейшее повышение количества добавляемого к молоку $CaCl_2$ снижало эффективную вязкость и повышало тиксотропность системы.

Поскольку при пастеризации осаждается часть фосфата Са, для восстановления свертывающих свойств в пастеризованное молоко целесообразно добавлять фосфаты [214, 1551, 1605]. Добавление фосфата Са вместо $CaCl_2$ или в качестве частичной его замены оказало существенное влияние на скорость сычужного свертывания и качество сыра. Добавление в молоко фосфата Са за 30 мин до внесения молокосвертывающего энзима снижало время сычужного свертывания; минимальным время свертывания было при внесении в молоко 0,01 М фосфата [710]. Внесение в 100 л молока 10–20 г $CaCl_2$ и 50–70 г монофосфата натрия предотвращало излишнее снижение pH сырной массы, улучшало консистенцию сыра, снижало частоту появления горького вкуса [1631].

Японские ученые полагают, что на структуру сыра большое влияние оказывает соотношение Са и Р, которое даже существеннее, чем влияние pH [551]. Молоко с отношением содержания Са к содержанию Р меньше 1 свертывалось за 36,8 мин, с немного большим 1 отношением – через 34,2 мин, еще более высоким – за 27 мин [1563].

Повышение содержания фосфата до 0,75 г/л и более немного увеличило время свертывания при незначительном изменении плотности сгустка [822].

Французские ученые установили, что в сычужновялом молоке отношение содержания Са к содержанию N менее 0,20, в нормальном молоке более 0,23 (Mocquot et al., 1954) [1593].

Солевое равновесие в молоке после добавления $CaCl_2$ или фосфатов наступает через определенное время. Поэтому рекомендуется их вносить в подготовленную для выработки сыра смесь с внесенным молокосвертывающим энзимом (около половины дозы) при 30–36° С, выдерживать смесь в течение 14–15 мин, а затем вносить остальную часть энзима; или вносить соли в пастеризованное молоко перед созреванием [1605].

Коллоидный фосфат кальция (ККФ) играет важную роль в сычужном свертывании молока: снижение содержания ККФ в мицеллах уменьшает скорость агрегации мицелл казеина [213, 451, 1184]. При снижении содержания ККФ больше чем на 20% сычужное свертывание вообще не происходит, если не увеличить содержание ионов Са в молоке.

Влияние ионной силы, катионов и анионов

На обе фазы сычужного свертывания влияет ионная сила молока. Влияние ее на энзиматическую фазу обусловлено тем, что энзим и суб-

страт имеют отрицательные заряды и поэтому отталкиваются друг от друга. Изменяя ионную силу молока, можно уменьшить величину и даже знак заряда. По-видимому, по этой причине при выработке некоторых видов сыров в молоко вносят до 0,15% NaCl [1186]. При слишком высокой ионной силе молокосвертывающая активность энзимов будет снижаться, и слишком высокие дозы соли в молоке не уменьшают, а увеличивают время сычужного свертывания. Наличие максимума на кривой ВСС, как функции ионной силы, очевидно, вызвано сменой заряда казеиновых мицелл в точке перегиба [213, 373].

При посолке Чеддера замена части NaCl на NaH_2PO_4 или KH_2PO_4 не изменила влаго- и жироудерживающую способности, кислотность сырной массы, но заметно уменьшила степень протеолиза и выраженности сырного вкуса и аромата; консистенция сыра стала тверже, более зернистой, менее липкой и эластичной, появился самокол; цвет теста стал белесым [382].

Предполагают, что агрегация параказеиновых мицелл осуществляется путем электростатического взаимодействия между отрицательно заряженными участками мицеллы, освобождающимися в результате отделения от нее МП, и неидентифицированными положительно заряженными участками соседних параказеиновых мицелл [326]. Поэтому факторы, влияющие на поверхностный заряд, влияют и на скорость сычужного свертывания молока.

С увеличением ионной силы среды скорость агрегации параказеиновых мицелл может увеличиваться и уменьшаться, что зависит от специфичности ионов [213]. Сычужное свертывание молока стимулировали Ca^{2+}, Mg^{2+}, Mn^{2+}, Cd^{2+}, ингибировали Cu^{2+}, Ni^{2+}, Hg^{2+} [1639]. Показано, что добавление в молоко Na^+, K^+, Li^+ и Cs^+ снижало концентрацию параказеиновых мицелл, необходимую для осуществления второй фазы сычужного свертывания [348].

Внесение в сырое молоко при 30° С $FeCl_3$ в количестве 0,43 мМ ускоряет гидролиз α-казеина химозином при производстве сыров, обогащенных железом [734].

Поликатионы могут устранить отрицательное влияние недостатка ККФ в мицелле на свертывание и даже вызвать коагуляцию казеина в отсутствие молокосвертывающих энзимов (Di Gregorio & Sisto, 1981). Добавление в молоко смеси Mn, Zn, Co и других микроэлементов сократило продолжительность сычужного свертывания молока, а также на 17% – время обработки зерна; содержание влаги в опытном Литовском сыре было ниже, чем в контрольных, на 1,7% [1600].

Сычужное свертывание молока замедляется при внесении в него нитратов K или Na [1631]. По Раманаускасу, внесение в молоко до 0,7% поваренной соли понизило константу скорости увеличения истинной вязкости при агрегации параказеиновых частиц с 350 до 194 $Па^{-1} \cdot с^{-1,5}$, что свидетельствует о замедлении образования структурных связей и упрочения сгустка (табл. 2.5) [1610]. В его опытах константа вязкости моно-

тонно снижалась с увеличением количества добавляемой к молоку соли. Ионы Na обладают способностью заменять связанный с казеином Ca и влиять на формирование и реологические показатели сычужного сгустка [490, 1384]. В то же время Кайрюкштене нашла, что максимальной прочностью сычужный сгусток обладал при внесении в молоко 0,5% поваренной соли [1401]. По Patel et al., сычужное свертывание и упрочение сгустка замедляются с повышением содержания NaCl в молоке. Даже 0,5% NaCl замедляет сычужное свертывание молока [822, 1621].

Частичное дефосфорилирование казеина оказало небольшое влияние на первую фазу сычужного свертывания, но заметно снизило скорость второй фазы и скорость упрочения сгустка [1184], что указывает на существенную роль фосфосерильных остатков казеинов в агрегации параказеиновых мицелл. Оноприйко для ускорения образования сгустка и синерезиса вносил в молоко после пастеризации фосфорную кислоту и фосфаты калия и натрия [1551]. К сожалению, в его опытах нет данных о влиянии этих добавок на микробиологические процессы и качество сыра.

Кислотность

Из рис. 2.14 видно, что скорости энзиматической и неэнзиматической фаз коагуляции молока снижаются при повышении pH. В опытах Раманаускаса повышение кислотности молока с 17 до 25° Т увеличило истинную константу скорости увеличения вязкости при сычужном свертывании молока с 291 до 606 $Па^{-1} \cdot с^{-1,5}$, что свидетельствует об ускорении формирования сгустка при повышении кислотности молока (табл. 2.5) [1610].

Оптимальный pH для гидролиза $\varkappa$-казеина примерно равен 6,0; в интервале 5,6–6,4 скорость гидролиза изменяется незначительно [450, 1149]. Если сычужное свертывание молока проводить при таком pH, то твердый сыр с традиционной консистенцией и вкусом не выработать из-за изменения состава и структуры мицеллы казеина и сыра (разд. 2.3). Сычужное свертывание молока проводят при pH 6,5–6,7 (17–20° Т), хотя скорость энзиматической реакции при этом намного ниже, чем при pH 6,0. В допустимом интервале кислотности молока лучше придерживаться ее верхней границы – как с точки зрения качества сыра, так и экономии молокосвертывающих энзимов. При повышении кислотности молока с 17 до 19,5° Т расход сычужного порошка снижается на 43%, свиного пепсина – на 65% при одном и том же времени свертывания [495]; константа скорости увеличения вязкости при 20° Т в 1,34 раза выше, чем при 17° Т [1610].

Снижение pH молока до 6,3 путем насыщения CO_2 уменьшает количество требуемого сычужного порошка на 75%, повышает прочность сгустка, образуемого свиным пепсином [444]. Избыток CO_2 из молока можно удалить инертным газом, например азотом.

Во время выработки сыра pH снижается. Однако некоторое снижение pH после гидролиза $\varkappa$-казеина для качества сыра неопасно, потому что параказеиновые мицеллы, в отличие от нативных, не теряют мицеллярный

фосфат кальция и β-казеин и не изменяют свою структуру при снижении pH до определенного уровня. От pH зависит содержание в параказеиновых мицеллах органического Са, но, по данным Белоусова, содержание Са в сыворотке и в сгустке не меняется при снижении pH до 6,25 [1229], следовательно, в этих границах pH параказеиновые мицеллы не теряют кальция. При дальнейшем снижении pH содержание Са в сыворотке начинает быстро увеличиваться, а в сгустке и сыре – уменьшаться. Если же первую стадию сычужного свертывания молока проводить при pH 6,4–6,2 (21–25° Т), то переход Са в сыворотку резко возрастает за счет поступления в нее мицеллярного фосфата Са из нативных мицелл казеина. При внесении молокосвертывающих энзимов в молоко с кислотностью 21–25° Т сгусток уже в начале обработки будет содержать на 13–17% меньше Са, чем сгусток из молока с pH 6,5–6,6 [402]. Сыры голландской группы при нормальной скорости нарастания кислотности во время выработки содержали в среднем 0,85% Са и 0,53% Р, при слишком быстром нарастании кислотности – 0,63–0,75% Са и 0,35–0,50% Р, при оптимальном содержании Са 0,8–0,9% [1185]. Отсюда следует, что сычужное свертывание молока следует проводить при pH 6,5–6,7, а удалять сыворотку нужно тогда, когда pH сыров с низкими температурами II нагревания будет на уровне 6,25, но не ниже 6,15. Более высокая кислотность молока при проведении энзиматической фазы и в начале формования сгустка приводит к крошливой, колющейся консистенции, более низкая – к грубой, резинистой консистенции сыра.

Модули G' и G'' при снижении pH после образования сгустка вначале немного возрастают (рис. 2.14), что, возможно, связано с увеличением количества положительно заряженных участков (pK гистидина ~ 6,4) и уменьшением отрицательно заряженных участков в параказеиновых мицеллах [1132]. Начиная с pH ~ 6,15, они довольно быстро снижаются с достижением минимума при pH 5,3. Таким образом, изменение модулей, в зависимости от изменения pH сгустка после его образования, согласуется с изменениями содержания в сгустке Са в опытах Белоусова [1229]. Влияние pH нельзя объяснить увеличением активности Ca^{2+}, которое не может происходить при снижении pH. По-видимому, это связано с выходом из мицелл МФК и казеинов. При pH 5,3–5,4 максимальна степень гидратации мицелл (рис. 2.2), что объясняется заполнением водой пространства, занимаемого вышедшими из мицеллы казеинами, большой пористостью мицелл. Возможно, что pH влияет на время сычужного свертывания путем воздействия на ККФ (Shaabi & Fox, 1982) [213].

При переработке молока с высокой кислотностью увеличивается количество химозина, остающегося в сыре, что может стать причиной появления горечи в сыре. Таким образом, pH сыров, при котором проводят энзиматическую фазу, должен поддерживаться в довольно узких границах, нарушение которых ухудшает качество сыра.

Ультрафильтрация и обогащение молока СОМО

Скорость первичной фазы незначительно, а вторичной фазы – существенно нарастает при увеличении степени концентрирования молока

ультрафильтрацией и при повышении дозы молокосвертывающего энзима (рис. 2.14). При постоянной дозе энзима концентрирование молока ультрафильтрацией немного замедляет сычужное свертывание и очень сильно ускоряет упрочение сгустка (модуль G' увеличивается) (Fox & Morrissey, 1972; Dalgleish, 1980; Green et al., 1983 [380, 1149, 1593]. Это можно объяснить двухфазностью свертывания: увеличение концентрации субстрата при одинаковой дозе энзима должно увеличить продолжительность энзиматической фазы; с другой стороны, увеличение концентрации казеина должно повысить число эффективных соударений параказеиновых мицелл и количество связей в сгустке. Тангенс потерь при этом не изменяется, следовательно, не меняется и характер связей в сгустке. Повышение содержания казеина с помощью добавления ретентата, полученного ультрафильтрацией, увеличивает максимальную плотность сгустка примерно на 15% и снижает образование сырной пыли примерно на 20% (Amram et al., 1982) [1593]. В сгустке из концентрированного ультрафильтрацией молока особенно сильно увеличивается вязкость (Culioli & Sherman, 1978) [380].

С увеличением степени концентрирования молока ультрафильтрацией ухудшаются показатели сгустка, характеризующие его способность к синерезису. Синерезис ухудшается за счет снижения проницаемости сгустка при неизменном давлении синерезиса. Однако, для сгустка из ультрафильтрованного молока, когда вся или большая часть влаги удаляется из молока во время ультрафильтрации, синерезис не играет заметной роли.

Казеиновый каркас сгустков из концентрированного УФ молока более жесткий и грубый, чем в сгустке из обычного молока, что обусловливает такие дефекты сыра, как крошливая, зернистая консистенция (Green, 1985) [380]. Он хуже удерживает жир, чем сгусток из нормального молока (Green et al. 1981), возможно, в связи с увеличением его содержания в результате ультрафильтрации. Структуру этого сгустка можно улучшить некоторым понижением температуры свертывания, а, следовательно, скорости агрегации параказеиновых мицелл. Сгусток из концентрированного молока начинает образовываться даже при 5° С [1499].

Сычужная свертываемость концентрированного УФ молока лучше сохраняется при пастеризации его при 90–97° С по сравнению с обычным молоком [380]. Высокотемпературная обработка такого молока повышает выход сыра, улучшает консистенцию мягких сыров (Prokopek et al., 1976) [380].

Повышение содержания казеина в обычном молоке за счет добавления СОМО увеличивает время сычужного свертывания и плотность сгустка. В опытах Кузнецова с соавт. средняя продолжительность индукционного периода без дополнительного внесения в молоко СОМО составила 7,8 мин при средней вязкости $1{,}57 \cdot 10^{-3}$ Па·с; средняя продолжительность стадии флокуляции составляла 1,9 мин [1466]. Внесение в молоко от 10 до 50 г /л СОМО удлиняло индукционный период на 0,27 мин и

повышало вязкость на 0,001 Па·с на каждые 10 г/л добавляемого СОМО; продолжительность стадии флокуляции повышалась на 0,26 мин с увеличением вязкости на $0{,}29 \cdot 10^{-3}$ Па·с. В этом случае при одинаковой дозе энзима снижалась его концентрация по отношению к непосредственному субстрату, что замедлило гидролиз $\varkappa$-казеина, но увеличило количество и прочность связей, участвующих в формировании сгустка.

Попытка улучшить технологические свойства сычужновялого молока путем добавления в него сухого молока низкотемпературной сушки не увенчалась успехом, так как в этом случае замедляется синерезис и образуется большое количество сырной пыли (Amram et al., 1962) [1593].

Состав и свойства молока

Главным показателем молока, характеризующим его сычужную свертываемость, является содержание казеина. Для получения хорошего сгустка, высокого выхода и качества сыра содержание казеина должно быть не ниже 2,5%; молоко с содержанием меньше 0,7% казеина сычужный сгусток не образует [487]. При повышении содержания казеина в молоке выше 2,5% существует зависимость между прочностью сгустка и содержанием казеина, причем прочность растет быстрее, чем содержание казеина [469, 487]. Увеличение содержания казеина в молоке с 26 до 36 г/кг не оказывает влияния на время свертывания, но заметно повышает прочность сгустка [1639]. В сычужновялом молоке содержание казеина на 9–11% ниже , в нем больше γ- и пара-$\varkappa$-казеина и мало $\varkappa$- и β-казеина [797]. Смешивание с нормальным молоком не улучшает сычужную свертываемость сычужновялого молока. Хранение сычужновялого молока при 4° С приводит к появлению очень сильной горечи в вырабатываемом из него сыре.

С содержанием казеина коррелирует содержание в молоке Са и Р, кислотность свежего молока, т. е. показатели, играющие важную роль в сычужном свертывании молока [322]. Все факторы, оказывающие отрицательное влияние на содержание казеина в молоке, ухудшают его сычужную свертываемость. К ним относятся заболевания коров маститами, недостаточное кормление, в частности, дефицит энергии в рационах и др. Так, например, при увеличении содержания соматических клеток в молоке (что чаще всего связано с заболеваниями коров маститами) с 500 до 1000 тыс. клеток/мл, содержание казеина снижается примерно на 15% [1261], а время сычужного свертывания увеличивается на 28% [18]. Еще сильнее снижается прочность сычужного сгустка.

На сычужную свертываемость молока оказывает влияние фракционный и генотипический состав казеинов. Факторы, от которых зависит содержание и состав казеинов в молоке, рассмотрены в гл. 7.

Повышение содержания жира в смеси с 0 до 4% не оказало влияния на продолжительность фаз сычужного свертывания и эластичность сгустка, немного увеличив эффективную вязкость [1364, 1686].

Продолжительность энзиматической фазы зависит, а фазы флокуляции – не зависит от размеров мицелл казеина [213, 772], хотя, по Нильсе-

ну с соавт., продолжительность фазы флокуляции более зависит от этого фактора [1542]. По их данным, если продолжительность первой фазы сычужного свертывания молока со средними размерами мицелл при 30° С принять за 1,00, то для молока с мелкими мицеллами она будет равняться 0,90, с крупными – 1,18; для второй фазы соответственно 0,72 и 1,72. Японские ученые разделили мицеллы центрифугированием на крупные и мелкие, затем подвергли сычужному свертыванию: в обоих вариантах содержание небелкового азота увеличивалось после добавления химозина в течение 20 мин, следовательно, скорость энзиматической фазы не зависела от размера мицелл [772]. Противоречивость результатов этих опытов может объясняться тем, что наряду с размерами мицелл менялись и некоторые другие, неучтенные факторы, оказывающие большее влияние на процесс. Однако зависимость сычужной свертываемости молока от размеров мицелл вряд ли имеет существенное практическое значение для сыроделия, поскольку сортировка молока по размеру мицелл казеина на заводах невозможна. Этот вопрос может иметь значение для селекции скота в зонах сыроделия.

Тепловая обработка молока

В производстве большинства сыров молоко пастеризуют при 72–74° С в течение 15–20 с. Отрицательное влияние такой пастеризации на сычужную свертываемость молока в основном связано со снижением в нем содержания ионов Са и рассмотрено в разд. 2.5.4. Оно ликвидируется внесением в молоко $CaCl_2$, созреванием пастеризованного молока с закваской (за счет снижения pH), но не хранением при температурах меньше 7° С, во время которого pH молока обычно повышается за счет размножения психротрофов. Привлекательна идея ужесточения режима пастеризации, в том числе проведение тепловой обработки молока при температурах выше 100° С с целью повышения бактериального качества сыра, в частности, предотвращения порчи сыров маслянокислыми бактериями, споры которых не уничтожаются обычной пастеризацией.

Режим тепловой обработки молока оказывает сильное влияние на первую фазу сычужного свертывания. Эффект незначителен до тех пор, пока не начнет денатурироваться β-лактоглобулин [213, 739]. Степень денатурации сывороточных белков зависит от температуры нагревания и времени выдержки при этой температуре (рис. 2.17) [1277]. При обычно применяемой в сыроделии пастеризации молока денатурируется 7,5–9,0% сывороточных белков [1229, 1277]. Сгусток из такого молока с добавлением $CaCl_2$ имеет хорошие технологические свойства. Увеличение выдержки молока при 70° С до 15 мин приводит к получению очень слабого сгустка [444]. При повышении температуры пастеризации с 72 до 80° С, с 15-секундной выдержкой, количество денатурированных сывороточных белков увеличивается с 7,5 до 27,5% [1108]. Сывороточные белки частично денатурируются в молоке, пастеризованном при 98° С с выдержкой в течение 0,5–1,87 мин, и в молоке, подвергнутом ультравысокой температурной обработке (140° С в течение 2–8 с); полностью – в

молоке, нагреваемом до температуры 85° С и выдерживаемом при этой температуре 10–40 мин [821].

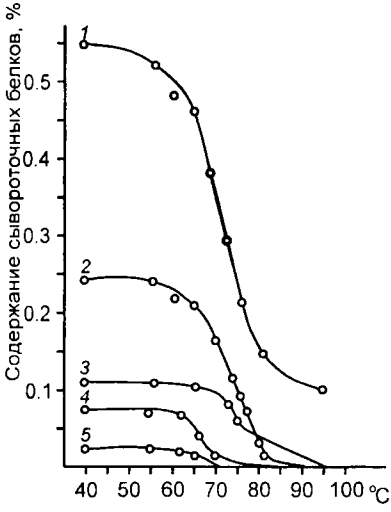


Рис. 2.17. *Изменение содержания неденатурированных сывороточных белков молока при нагревании до различных температур (выдержка 30 мин): 1 – общее содержание сывороточных белков; 2 – β-лактоглобулин; 3 – α-лактальбумин; 4 – иммуноглобулины; 5 – альбумин сыворотки крови*

Жесткая температурная обработка молока ингибирует энзиматическую фазу сычужного свертывания. Ингибирование состоит в том, что в молоке, обработанном при высоких температурах, снижается скорость гидролиза *æ*-казеина, и часть его совсем не гидролизируется молокосвертывающими энзимами. При повышении температуры пастеризации с 70 до 95° С с выдержкой 15 с, скорость первичной фазы снизилась на 25%, дальнейшее повышение температуры при этой выдержке не оказывало на нее влияния [451]. При такой обработке денатурировалось 25% сывороточных белков молока. Скорость первичной фазы снижалась при повышении температуры пастеризации линейно по отношению к количеству денатурированного β-лактоглобулина. Количество МП – продукта гидролиза *æ*-казеина – снизилось при тепловой обработке при 120° С в течение 5 мин на 10% (при температурах ниже 95° С количество отщепляемого МП не уменьшалось). При этом часть *æ*-казеина (~5%) была гидролизована в результате тепловой обработки до внесения в молоко химозина.

В другом опыте обезжиренное молоко и мицеллы казеина, суспендированные в ультрафильтрате молока с добавлением или без добавления сывороточного альбумина (СА), β-лактоглобулина (ЛГ) и иммуноглобулина (ИГ), нагревали при 80° С в течение 30 мин, охлаждали до 30° С и свертывали клонированным химозином [141]. СА, ЛГ и ИГ существенно замедляли сычужное свертывание молока.

Причиной отрицательного действия жесткой тепловой обработки на энзиматическую фазу сычужного свертывания является то, что денатурированный β-лактоглобулин взаимодействует с *æ*-казеином через

дисульфидные связи, что делает *æ*-казеин менее доступным для молокосвертывающих энзимов [326]. Однако это не единственная причина ухудшения технологических свойств сгустка, так как негативное действие увеличивается с повышением температуры даже в условиях постоянной степени денатурации сывороточных белков [380].

Высокотемпературная обработка молока оказывает более сильное негативное влияние на вторичную фазу сычужного свертывания, что, по-видимому, связано с осаждением на мицеллах $Ca_3(PO_4)_2$ и изменениями мицеллярного кальцийфосфатного комплекса [1279].

Сычужный сгусток из молока, подвергнутого высокотемпературному воздействию, имеет низкую прочность и малопригоден для изготовления твердых сыров, так как при последующей обработке он плохо отдает сыворотку, что является одной из причин появления излишне кислого вкуса и горечи, колющейся или пастообразной консистенции в продукте [326, 451]. По данным Оноприйко, повышение температуры пастеризации молока (с выдержкой в течение 20 с) с 70 до 80° С увеличило продолжительность сычужного свертывания молока в 1,5 раза, уменьшило скорость синерезиса в 1,7 раза [1551].

Часто высокотемпературную обработку молока пытаются применить для увеличения выхода и биологической ценности сыра за счет захвата денатурированного сывороточного белка сгустком. Выход сыра может быть увеличен воздействием высокой температуры, но не более, чем на 5%, и в основном за счет увеличения содержания влаги. Увеличение выхода за счет включения денатурированных сывороточных белков в сгусток без модернизации технологии нивелируется увеличением потерь казеина с сырной пылью, образующейся при обработке слабого сгустка [1175].

В целях предотвращения денатурации *β*-лактоглобулина молоко для выработки сычужных сыров пастеризуют при температуре не выше 75° С или термизуют (при выработке твердых сыров с высокой температурой II нагревания) при 63–65° С в течение 15–25 с. Замена пастеризации молока термизацией при 65–70° С снижает продолжительность сычужного свертывания молока в производстве твердых сыров, в зависимости от подкласса, на 2–10%, а также повышает качество сыра: она особенно полезна зимой [847].

Высокотемпературную обработку молока можно применять только при использовании специальных технологических приемов, восстанавливающих свойства сгустка, прежде всего прочность и синеретическую способность, и предупреждающих появление горьких продуктов, которые в большем количестве образуются из сывороточных белков во время созревания сыра [1605].

Нежелательные последствия высокотемпературной обработки молока можно почти полностью ликвидировать снижением pH до 5,8 с последующим повышением его перед добавлением молокосвертывающих энзимов до 6,3 (Davis & While, 1960) [213]. При снижении pH из мицеллы выходит часть мицеллярного фосфата Са, а после повышения

pH происходит реформация мицелл с восстановлением нормальной структуры. Нежелательное влияние на сычужное свертывание молока нагревания до 85° С, с выдержкой при этой температуре в течение 5 мин, и последующего его нагревания до 135° С без выдержки можно уменьшить понижением pH, добавлением $CaCl_2$ и непрогретых мицелл казеина [380, 792, 1290].

Созревание пастеризованного молока с 0,2–0,3% закваски, во время которого кислотность увеличивается на 1–2° Т (кислотность зрелого молока должна быть меньше 20° Т), восстанавливает его технологические свойства даже если пастеризацию проводят при температурах 75–79° С в течение 15–20 с [1605, 1755]. Хранение пастеризованного молока при температурах меньше 7° С не только не восстанавливает, но даже ухудшает его технологические свойства.

Получены положительные результаты по использованию высокотемпературной пастеризации в производстве сыров Моцарелла, Чешир [380].

Разработана технология сыра Волжский (твердый сыр с высоким уровнем молочнокислого брожения), включающая пастеризацию молока при 77–79° С в течение 15–25 с, созревание пастеризованного молока с добавлением закваски в течение 8–16 ч при 8–12° С, термизацию перед выработкой и применение специальной закваски, уменьшающей опасность появления горечи [1755]. Термизация молока после созревания нужна для уничтожения или дезактивации бактериофагов и вредной микрофлоры, размножившейся в молоке во время созревания. В результате применения этой технологии выход сыра увеличился ~ на 3%, содержание бактерий группы кишечной палочки и стафилококков уменьшилось в 6–10 раз по сравнению с контрольным сыром, вырабатываемым по технологии Российского сыра.

Макарян и др. показали, что в производстве рассольных сыров внесение в сырое молоко 0,03–0,05% триполифосфата натрия позволяет пастеризовать его при 85–90° С без снижения качества продукции [1508].

Высокотемпературная обработка молока может найти широкое применение в производстве мягких сыров, в которых синерезис сгустка играет менее важную роль ввиду их высокой влажности и обработка сгустка проводится менее интенсивно, что предотвращает образование больших количеств сырной пыли. Кроме этого, значительное повышение кислотности молока – характерная черта технологии большинства мягких сыров – ликвидирует большую часть негативного влияния высокотемпературной обработки на технологические свойства сгустка. Применение ее в производстве этих сыров повышает выход сыра на 4–8% [380, 1593].

Хранение молока при низких температурах

Широкое распространение получило хранение молока на фермах в течение нескольких суток при 3–4° С. Низкие температуры ингибируют рост микрофлоры в молоке, продолжительное хранение сокращает расходы на транспортировку. При низких температурах ослабляются гидрофобные связи в мицелле, часть казеинов, и прежде всего β-казеина,

выходит из мицеллы, определенное количество мицеллярного фосфата кальция также переходит в растворимое состояние, размеры мицелл уменьшаются (разд. 2.3) [213, 380, 1593]. Кроме этого, увеличивается содержание γ-казеина за счет гидролиза β-казеина и, в меньшей степени, продуктов гидролиза других казеинов плазмином (натуральная протеиназа молока) и энзимами, образуемыми размножающимися в молоке психротрофными бактериями. Эти изменения снижают выход сыра и ухудшают сычужную свертываемость молока: увеличивают время свертывания, уменьшают прочность сгустка и повышают количество сырной пыли, а также замедляют синерезис (табл. 2.9).

***2.9. Влияние выдержки молока при низкой температуре на его сычужную свертываемость и свойства сгустка (Leone et al., 1981)* [380]**

Показатели	Свежевыдоенное молоко, 20° С	Показатели молока после хранения при 3–4° С, % от контроля		
		Продолжительность хранения		
		24 ч	48 ч	68 ч
Время свертывания, мин	14,1 (10–17)	107 (105–108)	111 (108–116)	114 (110–120)
Прочность на разрыв (относительные показатели)	100 (80–140)	86 (75–98)	72 (62–78)	64 (56–69)
Сопротивление деформации	100 (85–125)	94 (85–100)	91 (81–96)	90 (85–95)
Потери с сырной пылью, (г/л сыворотки)	18,5 (14–22)	108 (106–115)	119 (108–139)	123 (112–136)
Влажность сгустка, г/100 г	75,6 (70–82)	100 (97–102)	102 (100–105)	106 (100–115)

Изменения в мицелле, возникающие при низких температурах, обратимы, по крайней мере частично, при повышении температуры молока. При 20° С для частичного восстановления сычужной свертываемости требуется 18–24 ч. Скорость свертывания можно восстановить, хотя и не полностью, выдержкой молока при 45° С в течение 80 мин, при 60° С – 35 мин и пастеризацией молока при 72° С (15–20 с), однако реакция различных партий молока на эту обработку неодинакова (Qvist, 1979) [1593]. Влияние различных факторов на восстановление технологических свойств молока, длительное время выдерживаемого при низких температурах, показано в табл. 2.10. Из приведенных в ней данных видно, что хорошие результаты по восстановлению сычужной свертываемости молока после холодильного хранения дает добавление в него 0,2 г/л $CaCl_2$ за час до внесения молокосвертывающего энзима. После добавления $CaCl_2$ молоко следует выдерживать при температуре 30–35° С [1593].

2.10. Влияние некоторых факторов на восстановление технологических свойств молока, хранившегося при низких температурах (Amram et al., 1982 [1593])

Показатели	Молоко после 48 ч хранения при 3° С	Методы коррекции технологических свойств молока после хранения при 3° С в течение 48 ч			
		Добавление $CaCl_2$	Выдержка 2 ч, 30° С	Подкисление до pH 6,5	Созревание 25 ч при 10° С, 0,1% закваски
Время свертывания	111 (4)	64 (2)	103 (1)	74 (16)	91 (4)
Прочность на разрыв	72 (5)	200 (63)	94 (33)	164 (65)	100 (31)
Сопротивление деформации	90 (6)	124 (15)	108 (9)	111 (11)	101 (5)
Потери с сырной пылью	119 (13)	88 (6)	115 (18)	99 (6)	104 (1)
Влажность сгустка	102 (5)	104 (7)	103 (1)	103 (6)	101 (7)

Примечание: приведены данные пяти экспериментов. Средние значения и стандартные отклонения (в скобках) указаны в % к молоку, не подвергавшемуся хранению при низкой температуре.

Гомогенизация и другие механические воздействия на молоко

Гомогенизация молока может повлиять на энзиматическую фазу сычужного свертывания. Во время гомогенизации часть оболочек жировых шариков разрушается, а сами шарики дробятся на более мелкие. В рекомбинированные оболочки новых шариков включаются белки молока. В результате этого часть мицелл казеина связывается с компонентами оболочек жировых шариков (Oortwijn, Walstra & Mulder, 1977), что делает чувствительную связь в *æ*-казеине менее доступной для энзима и увеличивает время сычужного свертывания молока [213, 1132, 1149, 1608, 1691]. Синерезис сгустков из гомогенизированного молока также замедляется (Emmons et al., 1980), что ведет к повышению влажности сыра из гомогенизированного молока [380]. Сгусток из гомогенизированного молока обладает меньшей жесткостью, и это улучшает консистенцию вырабатываемых из него мягких сыров. В производстве твердых сыров гомогенизация может интенсифицировать липолиз и привести к появлению пороков вкуса и мажущейся консистенции.

Интенсивное механическое воздействие на молоко не оказывает прямого влияния на продолжительность энзиматической фазы [1364]. Скорость флокуляции существенно снижалась при повышении механического воздействия на молоко в ротационном вискозиметре с коаксиальными цилиндрами [1364]. Роль механических воздействий на образование сычужного сгустка, очевидно, связана с разрушением непрочных

связей, участвующих в агрегации параказеиновых мицелл. Интенсивное механическое воздействие на молоко ингибирует размножение молочнокислых бактерий во время выработки сыра, что снижает скорость нарастания кислотности молока, которая влияет на его сычужную свертываемость, особенно на синерезис сгустка.

2.6. Обработка сгустка

После получения сгусток подвергают обработке, главной целью которой является ускорение выделения из него сыворотки и получение сыра заданного состава. Обработка сгустка включает его разрезку (постановку зерна), вымешивание зерна с промежуточным отбором части сыворотки, нагревание смеси зерна с сывороткой до определенной температуры (второе нагревание), внесение определенного количества соли в смесь зерна и сыворотки после удаления большей части сыворотки (частичная посолка в зерне), формование сыра в пласте под слоем сыворотки, насыпью или наливом, отделение сыворотки. Конкретная технологическая схема обработки сгустка зависит от вида сыра и качества молока. Главным процессом во время обработки сгустка является синерезис. Конец обработки определяют, в первую очередь, по степени обезвоживания зерна. Вторым по важности процессом является накопление биомассы молочнокислых бактерий закваски, осуществляющих совместно с молокосвертывающими энзимами трансформацию основных компонентов молока в компоненты сыра. В этот период имеются наиболее благоприятные условия для размножения микроорганизмов и происходит основное накопление их биомассы. Количество и состав этой биомассы определяют показатели качества и безопасности сыра.

Размножение микрофлоры сопровождается повышением кислотности, что оказывает мощное влияние как на количественную сторону синерезиса, так и на химический состав выделяющейся сыворотки и сырной массы, в частности, на содержание в сырной массе лактозы, кальция и фосфора, степень перехода химозина и пепсинов в сырную массу. В свою очередь, от кислотности зависят физико-химические показатели сырной массы, которые непосредственно влияют на структуру сыра и оказывают сильное влияние на биохимические и микробиологические процессы. Во время выработки сыра в сырной ванне закладывается основа качества будущего сыра.

В этой главе главное внимание уделяется синерезису, регулирование микробиологических процессов будет рассмотрено в гл. 3, 6, 11, 12.

На рис. 2.18 показаны направления влияния свойств молока и основных технологических факторов на скорость синерезиса и некоторые конечные результаты обработки сгустка [1147].

2.6.1. Кинетика синерезиса

После получения и упрочения до определенной степени сгусток подвергают обработке с целью повышения концентрации сухих веществ в нем за счет удаления части сыворотки. Выделение сыворотки из сгустка назы-

вается *синерезисом*. Движущими силами синерезиса являются внутреннее напряжение сгустка и его вес, под действием которых сгусток теряет до двух третей своего объема, а также внешние нагрузки (*прессование*), применяемые в производстве большинства сыров. Удаление сыворотки под действием собственного веса и внутреннего напряжения сгустка в отечественной литературе называют *самопрессованием*, в зарубежной – *спонтанным синерезисом*. Масса зрелых твердых сыров составляет около 10% от массы молока, затраченного на его производство. От умения управлять синерезисом сгустка зависят химический состав и качество сыра.

ПОКАЗАТЕЛИ	pH	Ca	syn	$W_н$	реннет
Содержание жира в молоке			—	⟋	
Интенсивность пастеризации	⟍	⌣	⌢	⟋	?
Холодильное хранение молока		—	⟍	—	
Количество добавляемого $CaCl_2$	—	⟋	⌢	—	
Количество добавляемой закваски	⟍	—	⟋	—	⟋
Подкисление	⟍	⟍	⟋	⟍	⟋
Время свертывания*	—		⟍	⟋	⟍
Температура свертывания	—	—	⟋	—	
Размер зерна	-		⟍	⟋	
Интенсивность перемешивания	⟋		⟋	—	
Количество удаляемой сыворотки			⟋	—	
Время II-го нагревания	—	—	-	—	
Температура II-го нагревания	⟋	⟋	⟋	⟍	⟍
Количество добавляемой воды	—	—	—	⟋	
Степень посолки в зерне		⟍		⟋	
Продолжительность обработки**	—	—	-	⟍	
Давление на пласт	-	-	⟋	⟍	
Время прессования в пласте	—	—	-	⟍	

Рис. 2.18. *Влияние свойств молока и условий выработки сыра на pH сгустка в конце обработки, количество Ca, остающегося в сгустке, скорость синерезиса (syn), содержание влаги в сухом веществе сыра до посолки (W_{ff}) и количество реннета, остающегося в сгустке. Кривые характеризуют тенденцию изменения показателя в мелких сырах. Отсутствие кривых показывает на отсутствие достаточных данных, прочерк свидетельствует об отсутствии связи (* для реннета, обычно используемого в промышленности; ** общее время между разрезкой сгустка и его отделением от сыворотки)*

Внутренние напряжения, стремящиеся сделать гель более компактным и уменьшить запас свободной энергии, возникают во всех биологических гелях. Казеиновый каркас молочного сгустка также начинает сжиматься и давить на содержимое ячеек, в результате чего часть заключенной в ячейках сыворотки выдавливается из сгустка через поры.

Прохождение жидкости через пористые материалы, обусловленное градиентом давления, подчиняется закону Darcy [1148]:

$$V = B \cdot \Delta P / \eta \cdot l, \qquad (2.6)$$

где V – *линейная скорость* потока жидкости в направлении l (м/с), измеряемая объемом жидкости, проходящим в единицу времени через поперечное сечение, перпендикулярное направлению l, деленным на площадь поперечного сечения. Если эффективный объем фракции материала, формирующего каркас сгустка, обозначить через φ (пористость будет равна $1 - \varphi$) и каркас сгустка будет изотопным (имеющим одинаковые свойства во всех направлениях), то действительная средняя скорость жидкости будет равна $V/(1 - \varphi)$.

B – *коэффициент проницаемости* матрицы сгустка ($м^2$), зависящий от геометрии сгустка. Чем больше B, тем меньше сопротивление сгустка выходу сыворотки. Он резко снижается при увеличении φ в процессе синерезиса. Проницаемость может изменяться в зависимости от скорости движения сыворотки: непостоянство скорости может влиять на вязкостное течение, а скорость потока сама по себе может влиять на матрицу сгустка, если матрица недостаточно жесткая. При низкой скорости потока (*Re* меньше 1, модуль сдвига меньше 0,1 Па) это влияние несущественно [1148, 1149]. Однако при деформации сгустка из-за повышенных нагрузок изменяется его проницаемость.

Средняя величина B для сычужного сгустка молока после его образования равна $2 \cdot 10^{-13}$ $м^2$ (табл. 2.7). Она увеличивается при увеличении времени с момента добавления в молоко молокосвертывающего энзима и температуры, снижается при повышении pH, не зависит от количества добавляемого хлористого кальция и резко уменьшается с повышением степени концентрации молока ультрафильтрацией (рис. 2.14).

η – *вязкость* (Па·с) жидкости, проходящей через пористую структуру: в молочном сгустке она равна вязкости сыворотки, которая зависит от температуры и кислотности.

ΔP – *давление*, оказываемое на сыворотку (Па), – давление синерезиса. Природа внутренних сил, вызывающих сжатие сгустка, недостаточно выяснена [1243]. Некоторые авторы (Cheeseman, 1962; Dimov & Mineva, 1962) считают, что выделение сыворотки из сычужного сгустка обусловлено снижением водосвязывающей активности параказеиновых мицелл по сравнению с нативными мицеллами, т. е. потерей мицеллой гидратного слоя. Другие считают, что параказеиновые мицеллы связывают только на 3% меньше воды, чем нативные [1148].

Давление синерезиса зависит от величины внешних сил, прикладываемых к сгустку, реологических свойств сгустка (модуля упругости,

спектра релаксации напряжения). Часть давления, оказываемого на сгусток, уравновешивается сопротивлением его каркаса. В уравнении фигурирует давление нетто, т. е. общее давление на каркас сгустка минус часть общего давления, уравновешиваемая каркасом сгустка.

Из рис. 2.14 видно, что вначале давление синерезиса быстро растет, затем начинает снижаться и становится небольшим через сутки после внесения молокосвертывающих энзимов в молоко (van Dijk, 1982). В первый период давление синерезиса растет, несмотря на увеличение прочности сгустка. Более того, максимальная скорость синерезиса характерна для сгустков с достаточно высокой прочностью. Скорость синерезиса при увеличении прочности сгустка проходит через максимум. Объяснить это можно тем, что те же силы, которые обеспечивают прочность сгустка, вызывают и внутренние напряжения в нем. «Слабые» сгустки плохо отдают сыворотку из-за небольшой величины этих сил, излишне прочные сгустки тоже плохо отдают сыворотку, несмотря на достаточную величину этих сил, потому что они в большей степени уравновешиваются сопротивлением казеинового каркаса.

l – расстояние (м), которое нужно пройти сыворотке. Разрезка сгустка увеличивает синерезис за счет снижения *l* и увеличения поверхности потока сыворотки.

Уравнение (2.6) практически нельзя использовать для количественного определения скорости синерезиса из-за неоднородности сгустка. Кроме этого, величины *B* и *l* зависят от направления, в котором идет синерезис, и в реальных условиях вектор скорости необходимо разлагать на три составляющие. Условия на поверхности и прилегающих к ней участках сырного зерна будут очень сильно отличаться от условий во внутренних слоях.

Общей тенденцией будет снижение скорости синерезиса с течением времени. Предложено несколько простых уравнений для определения изменения объема сычужного сгустка в результате синерезиса, однако маловероятно, что точность их достаточно высока. Lawrence и Hill (1974) считают, что количество выделившейся из сгустка сыворотки пропорционально времени, прошедшему после внесения в молоко молокосвертывающих энзимов, в степени 1/2.

Weber (1984) предложил следующее уравнение для определения объема сгустка (массы) (*V*) в зависимости от начального объема (V_o) и времени (*t*), прошедшего после начала синерезиса при прочих постоянных условиях [1148]:

$$V = 0{,}15\ V_0 + 0{,}85\ V_0^{-Kt} \qquad (2.7)$$

K в этом уравнении величина постоянная, линейно зависящая от температуры.

Овановой [1546] предложено следующее уравнение для кинетики синерезиса:

$$dV/dt = K\,(V_e - V_t)\,t^{-1/2}\text{, где} \qquad \textbf{(2.8)}$$

V_e – объем частицы сгустка после достижения равновесия (в конце видимого синерезиса); V_t – объем частицы сгустка в момент времени t (с); K – констан-

та скорости синерезиса ($c^{-1/2}$). К зависит от свойств молока; в опытах Ованой она изменялась от 4,89 до 9,47·10^{-5} $c^{-1/2}$, в среднем равнялась 7,14·10^{-5} $c^{-1/2}$. Равновесное состояние системы характеризуется отношением V_t/V_o, где V_o – начальный диаметр частицы. Между V_t/V_o и прочностью сычужного сгустка существует корреляция ($r = -0,5$).

Во всех предлагаемых для определения скорости синерезиса уравнениях она пропорциональна $t^{1/2}$. При K_t, намного меньшем 1, она пропорциональна t [1148].

2.6.2. Определение величины синерезиса

Конечный результат синерезиса оценивают по влажности сыра. Для изучения процесса синерезиса определяют: степень сжатия сгустка (по изменению высоты, объема или массы сгустка); количество выделившейся сыворотки; количество сухих веществ или плотность сгустка [1148]. Определение показателей синерезиса можно проводить в неразрезанном сгустке, в сыворотке или на воздухе, на кусочках сгустка в сыворотке в покое или при перемешивании, в сгустке после отделения сыворотки. Все методы обладают определенными недостатками. Очень трудно точно определить степень сжатия сгустка по изменению его размеров или массы. Хорошие результаты по оценке синерезиса на последних стадиях выработки сыра дают последовательные определения массы и влажности сгустка, сформованного в головку.

При оценке синерезиса по количеству сыворотки трудно отделить всю выделившуюся из сгустка сыворотку, что приводит к занижению степени синерезиса. Для преодоления этого в сыворотку добавляют какой-либо маркер, растворимый только в сыворотке, периодически отбирают пробы и определяют в них концентрацию маркера как функцию времени, по которой оценивают скорость синерезиса. В качестве маркеров используют обработанные формальдегидом мицеллы казеина или другие подходящие полимеры. Недостатком этого метода является возможное связывание части маркера сгустком, в результате чего снижение его концентрации в сыворотке произойдет не только за счет увеличения степени синерезиса и скорость синерезиса будет завышена.

Pearse et al. (1984) добавлял к сгустку очищенную сыворотку и по ходу опыта отбирал пробы и определял ее оптическую плотность, которая должна увеличиваться пропорционально количеству выделенной при синерезисе сыворотки [1148]. Недостатком этого метода является изменение мутности сыворотки, выделяющейся на поздних стадиях синерезиса, за счет снижения в ней содержания жира.

Определение содержания сухих веществ в сгустке также связано с трудностями отделения от него сыворотки. Применение для этой цели жестких методов может само по себе интенсифицировать синерезис. Недостатки методов изучения синерезиса позволяют говорить о тенденциях в этом процессе скорее, чем о количественных его показателях.

2.6.3. Факторы, влияющие на синерезис

Факторы, от которых зависит синерезис, изучали многие авторы. Капитальные исследования по синерезису в последние десятилетия проведены в Нидерландах в лаборатории проф. Walstra. Глубокий анализ результатов этих исследований сделан в их обзоре (Walstra et al., 1987) [1148]. Большое количество работ в этом направлении провели во ВНИИМС Табачников с учениками, Раманаускас в Литовском филиале ВНИИМС.

Геометрические факторы

Скорость синерезиса пропорциональна площади поверхности, через которую выделяется сыворотка. Если сгусток прочно прикрепляется к вертикальным поверхностям сосуда (стенки сосуда должны быть чистыми), в котором он находится, то выделение сыворотки через контактирующие поверхности не происходит. Спонтанный синерезис в сычужном сгустке наблюдается в коническом сосуде, по-видимому, в связи с тем, что гель под действием собственного веса теряет связь со стеклянными стенками еще до окончательного образования. Синерезис также наблюдается в сосуде с вертикальными стенками, если его наклонять во время образования сгустка. Со временем гель становится более прочным и синерезис не происходит даже при незначительных механических воздействиях.

Покоящийся сгусток не показывает синерезиса на поверхности раздела с воздухом при температуре не выше 30° С и при небольшой площади поверхности. Возможно, в этом случае поры или капилляры для выхода сыворотки перекрываются поверхностным натяжением. В пользу этого предположения говорит то, что если на поверхность покоящегося сгустка поместить каплю воды или сыворотки, то начинается спонтанный синерезис. Для интенсификации синерезиса сгусток подвергают обработке, которую начинают с его разрезки. Чем ниже должна быть влажность сыра, тем на более мелкие кусочки разрезают сгусток. Влажность зерна размером от 3 до 4 мм была на 17% ниже влажности зерна размером более 7 мм при прочих одинаковых условиях [1390]. Однако в другом опыте были получены иные результаты (табл. 2.11).

Если принять содержание влаги в варианте со средними размерами зерна за 100%, то содержание влаги в зерне после обработки в варианте с более мелким зерном в этом опыте равнялось 97, а с более крупным зерном – 103,6%; в сырах после прессования – соответственно 98 и 102%, в 75-суточных сырах – 98,8 и 101%. Разница во влажности сыров с различными размерами зерна при постановке была небольшой, и она уменьшалась по мере их созревания. В соответствии с этим изменялась и активная кислотность сыра. Тем не менее разница в размерах зерна оказала существенное влияние на консистенцию и рисунок сыра. В сырах с мелким зерном консистенция была слегка мучнистой, рисунок, как правило, мелким и частым. Продукт с крупным зерном имел более плотную консистенцию и менее развитый, неравномерно расположенный рисунок, в

нем часто встречались глазки вытянутой овальной формы. В Костромском сыре рисунок образуется в результате газообразования микрофлорой. То, что в сырах всех вариантов рисунок был правильным, свидетельствует об участии в его образовании только газообразующей микрофлоры заквасок. Мелкий и частый рисунок в сырах с мелким зерном скорее всего является следствием наличия большого количества центров для образования глазков (глазки образуются в местах стыковки зерен), в сырах с крупным зерном таких центров было недостаточно.

2.11. Влияние величины сырного зерна на содержание влаги и качество костромского сыра [1193]

Показатели	Размер зерна при постановке, мм		
	4–6	2–4	6–8
Содержание влаги, % :			
Зерно в конце обработки	64,4	62,5	66,7
Сыр			
после прессования	45,4	44,6	46,3
через 10 суток	43,3	42,8	43,9
через 30 суток	42,2	41,7	42,7
через 75 суток	41,5	41,0	41,9
Активная кислотность сыра, pH после прессования	5,63	5,69	5,58
через 3 суток	5,24	5,26	5,20
через 10 суток	5,19	5,20	5,18
через 75 суток	5,26	5,27	5,24
Количество сырной пыли, %	0,6	1,7	0,4
Оценка в баллах:			
вкус и запах	39,6	39,6	39,4
консистенция	24,2	23,4	23,6
рисунок	8,8	7,4	7,2
общая оценка	92,6	90,4	90,2

Количество сырной пыли увеличивается, а следовательно, выход уменьшается при постановке более мелкого зерна.

Более плотная консистенция в сырах с крупным рисунком, возможно, обусловлена более высокой их влажностью на первых этапах после выработки, что должно привести к увеличению в них содержания лактозы, затем титруемой и активной кислотности и, как следствие, к некоторому снижению скорости протеолиза. В зрелом же виде, когда оценивали консистенцию, содержание влаги во всех сырах выравнялось и ее собственная роль как пластификатора консистенции не проявилась. Причины появления мучнистой консистенции в сырах с мелким рисунком установить трудно. Возможно, недостаток влаги в них на первых этапах привел к кристаллизации части лактатов.

Параллельно со снижением содержания влаги в зерне в процессе обработки увеличивается его прочность. В тонком слое сычужного сгустка количество выделившейся сыворотки за 2 ч при 35° С было пропорционально толщине слоя, если она не превышала 15 мм; увеличение толщины слоя не приводило к увеличению количества выделившейся за это время сыворотки (Waarden, 1947) [1148]. Следовательно, размер сырного зерна после постановки должен быть менее 15 мм. Постановка слишком мелкого зерна также не имеет смысла, потому что скорость выделения сыворотки быстро снижается из-за удаления из него основного количества влаги, а продолжительность обработки зерна определяется не только количеством остающейся в сгустке влаги. Во время обработки зерна в сырной ванне идет основное накопление биомассы микрофлоры, осуществляющей биотрансформацию компонентов молока в компоненты сыра, и уровень биомассы коррелирует с продолжительностью обработки зерна. Поэтому продолжительность обработки планируют с таким расчетом, чтобы получить сыр с определенной влажностью и накопить за это время достаточно большое количество необходимой микрофлоры, так как на последующих этапах производства темпы размножения микроорганизмов резко снижаются. Казалось бы, накопление биомассы необходимой микрофлоры во время выработки сыра можно увеличить, повысив дозу закваски, но в этом случае pH молока во время свертывания снизится ниже оптимального уровня (разд. 2.5.4).

Слишком высокая степень обсушки зерна во время обработки оказывает отрицательное влияние на качество и выход сыра. В связи с этим размеры зерна должны быть такими, которые обеспечивают нужную степень его обсушки в течение оптимальной продолжительности обработки зерна.

Получение и обработка сгустка

Большинство исследователей отрицает влияние концентрации молокосвертывающих энзимов на синерезис. Лишь немногие авторы указывают на изменение скорости синерезиса при изменении дозы молокосвертывающих энзимов. Это может быть связано с тем, что изменение дозы влияет на скорость свертывания молока, а следовательно, на оптимальное время разрезки сгустка, от которого зависит скорость синерезиса, что может быть не учтено при проведении опытов.

Во ВНИИМС установлено, что при обычных дозах закваски (до 2%) количество сычужного порошка не оказывает влияния на синерезис; при 6% закваски то же количество сычужного порошка увеличивает количество выделившейся сыворотки на 4% [1701]. В данном случае усиление синерезиса скорее всего связано со снижением pH при высоких дозах закваски, регулирование которого по ходу опыта не проводили.

Соколова изучала сычужное свертывание молока при 30, 33, 36 и 39° С [1666]. Повышение температуры уменьшило продолжительность свертывания в 2,7 раза и продолжительность обработки зерна (за счет ускорения синерезиса) – в 7,2 раза; прочность сгустка при повышении темпера-

туры свертывания с 30 до 36° С увеличилась в 1,9 раза, дальнейшее повышение температуры до 39° С уменьшило прочность сгустка в 1,3 раза.

В опытах Раманаускаса повышение температуры свертывания с 24 до 35° С привело к повышению модуля упругости (E_1) в 2,13 раза, понизило значение модуля эластичности (E_2) в 1,56 раза, увеличило вязкость в 4,2 раза и время релаксации – в 3,45 раза [1609]. Согласно результатам опытов голландских ученых модуль эластичности почти линейно снижается, а синеретическая способность сгустка, наоборот, возрастает при увеличении температуры свертывания в интервале от 20 до 40° С (рис. 2.14) [1148]. Таким образом, повышение температуры свертывания оказывает неодинаковое влияние на различные реологические характеристики сгустка, но однозначно повышает скорость синерезиса.

Табачников и Дудник показали, что сгусток следует разрезать, когда после достижения гель-точки пройдет столько времени, сколько потребовалось для ее достижения с момента внесения сычужного порошка, т. е. через промежуток, равный двойному времени свертывания молока [1685]. Доза сычужного порошка влияет на время сычужного свертывания, а значит, и на оптимальный момент для разрезки сгустка [1148]. Выдержка сгустка без разрезки более продолжительное время по сравнению с оптимальным (даже на 5 мин) увеличивает его прочность, что повышает сопротивляемость сжатию и снижает давление и скорость синерезиса. Более ранняя разрезка сгустка увеличивает потери белка и жира с сывороткой. Между прочностью сгустка и степенью использования белка и жира молока в производстве сыра Чеддер существует корреляция (r = 0,29) [767].

Бобрышев и Остроумов считают оптимальной прочность сгустка при разрезке 72–75 $Па \cdot 10^{-2}$ для Голландского брускового и 67,5 $Па \cdot 10^{-2}$ для Советского сыров [1237]. Разрезка сгустка при прочности 55 $Па \cdot 10^{-2}$ в их опытах увеличивала долю зерна размером менее 1 мм (сырной пыли) с 1,87 до 4,74%.

Оноприйко считает, что разрезку сгустка следует проводить в тот момент, когда усилие резания его неразрушенной структуры струнным индентором составит $(55–60) \cdot 10^3$ кг сгусткомера «Элгеп» [1551]. По его мнению, ранее начатая разрезка сгустка увеличивает продолжительность обработки зерна, более поздняя – затрудняет постановку зерна заданного размера и увеличивает потери с сырной пылью. Последнее противоречит мнению других авторов. Разработан метод определения готовности сычужного сгустка к разрезке с помощью ультразвука [1367].

Лювен показал, что скорость синерезиса сгустка ретентата ультрафильтрованного молока обратно пропорциональна плотности [1499]. В его опытах нормальная для разрезки плотность сгустка при внесении 0,1% сычужного порошка достигалась через 10 мин. Если разрезку задерживали до 16 мин, содержание влаги в сыре Чеддер увеличивалось с 40 до 43%. Снижение концентрации энзима до 0,04%, постановка более мелкого зерна (0,5 $см^3$ вместо 1 $см^3$) уменьшали влияние времени разрезки зерна на влажность сыра.

Разработан способ определения готовности сырного сгустка к разрезке, основанный на подаче в него воздуха через капилляр, подключенный к прибору для измерения давления [1388]. О состоянии сгустка судят по давлению в капилляре: момент его скачкообразного увеличения свидетельствует о готовности сгустка к разрезке. В начале свертывания на поверхность молока помещают поплавок с вставленным капилляром, в который нагнетают воздух под давлением 50–55 мм в. ст., обеспечивающим выход из капилляра 8–10 пузырьков воздуха/мин. В течение первых 30–35 мин давление в капилляре снижается и достигает 25–30 мм в. ст., затем оно резко увеличивается до 80–85 мм в. ст., что и свидетельствует о готовности сгустка к разрезке.

Влияние реологических показателей сгустка на скорость синерезиса во время обработки зерна неоднозначно. При высокой клейкости зерна, способствующей образованию его конгломератов, низкая прочность сгустка соответствует низкой скорости синерезиса. При отсутствии тенденции к образованию конгломератов низкая прочность сгустка способствует деформации зерен, что ускоряет синерезис. Однако следует учитывать, что внутренние напряжения в сгустке обусловлены теми же силами, которые обеспечивают прочность, поэтому при слишком низкой прочности сгустка давление и скорость синерезиса могут быть низкими.

Скорость синерезиса возрастает при перемешивании, причем увеличение может составлять 20–30% от скорости синерезиса в статичных условиях (Cheesman & Chapman, 1966). Влияние перемешивания на скорость синерезиса показано на рис. 2.19 (Lawrence, 1959) [1148]. Это влияние может быть двояким. Прежде всего, оно предотвращает осаждение сырного зерна. В случае осаждения, особенно на ранних стадиях синерезиса, сырные зерна начинают склеиваться друг с другом, что уменьшает поверхность синерезиса и ограничивает возможности для выхода сыворотки из сгустка. Во-вторых, при перемешивании возникает дополнительное давление на сырное зерно (до 10 Па) благодаря градиенту скоростей в перемешиваемой жидкости и соударению зерен друг с другом.

Повышение скорости перемешивания выше уровня, который предотвращает осаждение зерна, увеличивает скорость синерезиса. При слишком интенсивном вымешивании часть зерна может быть раздроблена, что увеличит поверхность синерезиса, но также и количество сырной пыли, а, следовательно, уменьшит выход сыра.

На рис. 2.20 показано изменение содержания воды в сгустке в зависимости от времени, прошедшего после добавления в молоко молокосвертывающих энзимов, выдержки сгустка на воздухе и присутствия закваски. Из него видно, что обезвоживание сгустка наиболее быстро идет в начальный период после его образования. Этого следовало ожидать хотя бы потому, что сжатие сгустка по мере выхода части сыворотки должно уменьшать размеры пор, и, следовательно, проницаемость сгустка. Кроме этого, по мере увеличения продолжительности синерезиса в сгустке снижается общее содержание влаги и, в первую очередь,

несвязанной или непрочно связанной с другими компонентами сгустка, наиболее легко удаляемой из него.

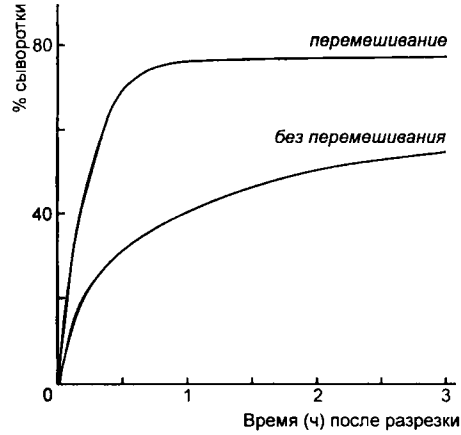


Рис. 2.19. *Количество выходящей сыворотки (в % от первоначального объема молока) из сгустка, выдерживаемого в сыворотке при 38 °С, в зависимости от времени после разрезки и перемешивания* [1148]

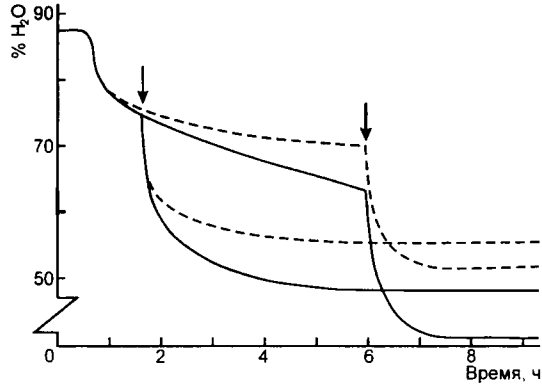


Рис. 2.20. *Изменение содержания воды в сгустке как функция времени после внесения энзима* [1148]

Сгусток разрезали после 0,5 ч. Его два раза вынимали из сыворотки (показано стрелками) и помещали в сырные формы. Опыты проводили с добавлением (——) и без добавления (- - -) закваски. Сгусток непрерывно перемешивали. Температура сыворотки на протяжении опыта равнялась 32 °С, температура в форме постепенно снизилась до 20 °С

Выемка сгустка из сыворотки сильно стимулировала синерезис. Thome et al. (1958) показали, что при 4-кратной выемке сгустка из сыворотки с выдержкой на воздухе каждый раз в течение 30 с вес его в конце выдержки был на 13% ниже, чем вес сгустка, который вынимали из сыворотки только один раз на 30 с [1148]. Периодическая кратковременная выдержка сгустка в воздушной среде не только резко увеличивает скорость синерезиса, но и повышает максимальную степень обезвоживания сгустка, достигаемую за счет внутренних напряжений и собственного веса.

В сыроделии свертывание молока происходит на фоне интенсивного развития микрофлоры закваски, что стимулирует синерезис. Практика сыроделия и отдельные исследования в этом направлении указывают, что на синеретические свойства сычужного сгустка достаточно сильно влияет видовой и штаммовый состав микрофлоры применяемых заквасок [1547]. Это влияние обусловлено не только их различной кислотообразующей активностью. Синерезис при выработке мелких сыров обычно идет более интенсивно с использованием заквасок, в которых доминируют штаммы *Lc. lactis subsp. lactis*, а не *Lc. lactis subsp. cremoris*. Загрязнение мезофильных заквасок ацидофильной палочкой очень сильно замедляет синерезис, несмотря на более интенсивное кислотообразование во время выработки сыров.

Давление

Влияние давления на синерезис сгустка, погруженного в сыворотку, показано на рис. 2.21. Нулевая точка на оси давления соответствует давлению, обусловленному внутренними напряжениями (равными примерно 1 Па), собственным весом и перемешиванием сгустка. За 2 ч под действием этих сил из сгустка выделилось около 30% сыворотки от первоначального объема молока. Внешнее давление в опыте создавали плитами, накладываемыми на зерно, находившееся под слоем сыворотки. Увеличение внешнего давления на сгусток до 20 Па увеличило количество выделившейся за два часа сыворотки примерно с 5 до 65%. Дальнейшее повышение давления незначительно увеличивало количество выделяющейся сыворотки.

Резкое ускорение синерезиса при выемке сгустка из сыворотки (рис. 2.20), по-видимому, также обусловлено повышением давления синерезиса, часть которого в погруженном в сыворотку сгустке уравновешивается внешней средой. Если сгусток сразу после образования удалить из сыворотки, то синерезис пойдет очень быстро (в три раза быстрее, чем при вымешивании сгустка под слоем сыворотки) (Berridge & Scurlock, 1970) [1148].

Разбавление сыворотки водой во время обработки сырного зерна уменьшает скорость его обсушки, по-видимому, из-за снижения частоты столкновений зерен друг с другом, в результате которых возникает градиент давления, и за счет снижения ее кислотности. При одинаковой продолжительности обработки содержание влаги после прессования в Костромском

сыре, выработанном без добавления и с добавлением 5 и 10% воды в сыворотку, равнялось соответственно 45,3; 45,9 и 47,1%. В сырах 30-суточного возраста содержание влаги во всех вариантах сравнялось [1435]. Этот опыт свидетельствует о необходимости увеличения продолжительности обработки зерна при разбавлении сыворотки водой.

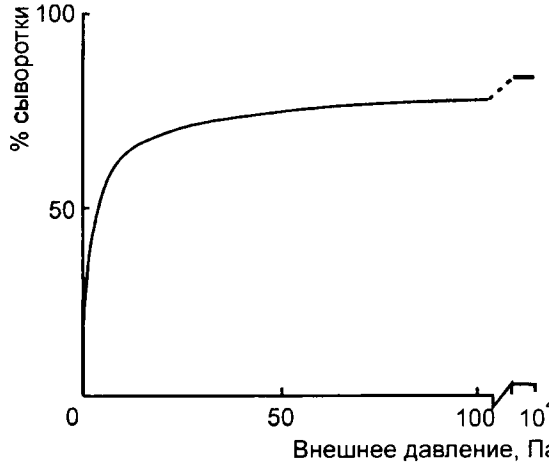


Рис. 2.21. *Количество сыворотки, выделяющейся из сгустка (% от объема исходного молока) в течение 2 ч при 30 °С, как функция внешнего давления, прилагаемого к сгустку* [1148]

Удаление значительного количества сыворотки оказывает противоположное действие.

Температура

Температура сильно влияет на скорость синерезиса (рис. 2.22). Количественно результаты опытов по влиянию температуры на синерезис, приводимые разными авторами, существенно отличаются, что обусловлено неодинаковыми условиями их проведения, но общие тенденции проявляются достаточно четко. Наиболее быстро скорость синерезиса изменяется в интервале температур от 25 до 42–43° С. Если при 25° С температурный коэффициент Q_{10}, по данным различных авторов, варьирует в пределах от 2,5 до 15, то при 45° С – только от 1,1 до 1,5 [1148]. Скорость изменения температуры (dT/dt), по-видимому, не влияет на синерезис. Наиболее сильное влияние на скорость синерезиса и конечное содержание влаги в сыре оказывает температура второго нагревания. Повышение температуры II нагревания при выработке сыров типа Голландского с 38 до 42° С уменьшило влажность сыра после прессования на 1,9%, а зрелого сыра – на 1,3% [1487].

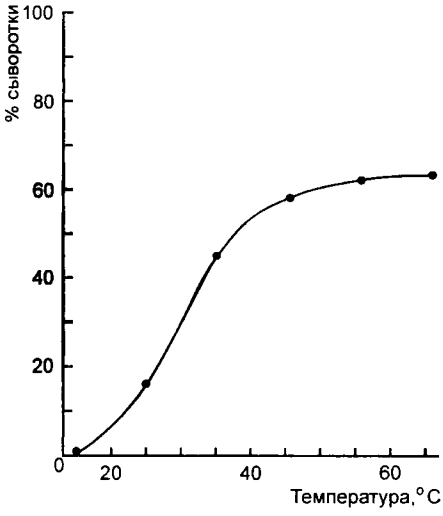


Рис. 2.22. *Количество сыворотки (% от объема молока), выделившейся в течение часа после разрезки из сгустка, полученного при различных температурах сквашивания и обработки (Gyr, 1944)* [1148]

Нет единого мнения о влиянии выдержки молока при низких температурах перед свертыванием на синеретические свойства получаемых из него сычужных сгустков. По данным Kammerlehner (1974), выдержка молока при 5° С в течение 20 ч снижает скорость синерезиса на 30%. Предварительный нагрев молока перед свертыванием до высоких температур (пастеризация или термизация) ликвидирует вредное влияние выдержки при низких температурах на синерезис.

Кислотность

Из рис. 2.20 видно, что синерезис идет быстрее, если сычужное свертывание происходит в молоке с закваской, что, очевидно, связано со снижением pH. На рис. 2.23 показана скорость синерезиса сычужных сгустков в зависимости от pH молока по данным нескольких авторов. По Илюшкину и Табачникову [487], зависимость влажности зерна ($W_з$), выдержанного в течение 48 часов в буферных растворах из смеси буры и янтарной кислоты при 20° С, от величины pH выражается следующим уравнением регрессии:

$$W_з = 23{,}8 + 5{,}14\ \text{pH}\ (r = 0{,}96) \qquad (2.9)$$

Как и в исследованиях по изучению влияния температуры на синерезис, результаты опытов разных авторов по изучению действия кислотности на скорость выделения сыворотки из сычужного сгустка отличались количественно, но тенденция во всех опытах была одинакова: скорость синерезиса уменьшалась при увеличении pH. Влияние pH было более выражено при пониженных температурах и без перемешивания, когда скорость синерезиса была низкой. Вид кислоты, с помощью которой устанавливали pH, роли не играл.

Снижение pH во время синерезиса вызывало более сильное повышение скорости выделения сыворотки, чем доведение pH молока до того же уровня до свертывания, что может быть обусловлено сжатием казеинового каркаса сгустка во время изменения pH [1148].

Кислотность смеси сыворотки с сырным зерном влияет не только на скорость синерезиса, но и на состав сыворотки и сырной массы, прежде всего – на содержание в них кальция.

Состав и свойства молока

Общая тенденция состоит в следующем: чем выше содержание воды в сгустке, тем выше скорость синерезиса, но содержание влаги в сгустке по отношению к СОМО после окончания синерезиса при этом существенно не меняется [1148, 1666]. Разбавление молока водой (например, на 20%) увеличивает содержание воды в сгустке и скорость синерезиса. Объяснить это можно так: чем больше воды в молоке, тем больше свободной или непрочно связанной влаги. Увеличение скорости синерезиса при этом не должно отражаться на конечной продолжительности синерезиса. Добавление 5% воды в молоко не оказало влияния на синерезис. Таким образом, разбавление молока водой оказывает обратное действие на синерезис сычужного сгустка по сравнению с разбавлением сыворотки водой. Добавление к молоку СОМО в количестве 10 г/л увеличивает интенсивность синерезиса сычужного сгустка молока на 20% [1466].

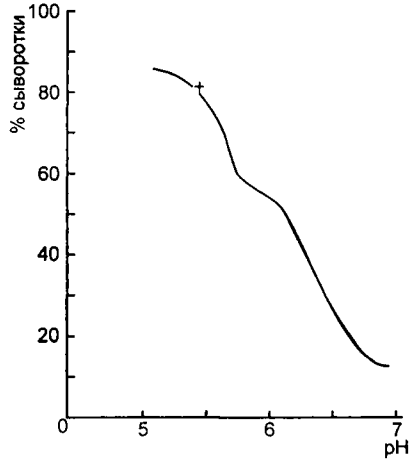


Рис. 2.23. *Количество сыворотки (% от объема молока), выделившейся за час после разрезки из сгустка, полученного и обработанного при различных pH (средние данные по нескольким экспериментам)* [1148]

Прочность сычужного сгустка, от которой зависит синерезис, во многом определяется содержанием казеина и генетическим типом *æ*-казеинов в молоке [693, 1435]. Увеличение в *æ*-казеине сборного молока доли *æ*-казеина В до 20% повышает прочность сычужного сгустка таким же образом, как увеличение содержания белка на 1 г/кг. Выпас коров на пастбище также повышает прочность сычужного сгустка, что, вероятно,

связано с повышением содержания Ca в молоке. Добавление в молоко α- и β-казеинов в количестве 54 мг на 30 мл увеличивает упругость геля, добавление только $\varkappa$-казеина повышает прочность геля.

Скорость синерезиса снижается при повышении содержания жира из-за закупоривания жировыми шариками части пор, через которые выходит сыворотка. Если содержание жира в молоке повысить с 2 до 6%, то скорость синерезиза снижается примерно на 15% (Dimov & Mineva, 1962; Johnston & Murphy, 1984). Жирность молока в интервале от 0 до 4% не оказывает влияния на синерезис [1686].

Интенсивное механическое воздействие на молоко, его вспенивание, продолжительное хранение могут отразиться на синерезисе. Размножение в молоке психротрофных бактерий, в частности псевдомонад, сверх определенного уровня существенно замедляет синерезис (Lelievre et al., 1978) [1593].

Внесение в молоко до 10 мМ $CaCl_2$ оказывает сильное влияние на продолжительность сычужного свертывания, а на синерезис или не оказывает никакого действия, или немного его стимулирует. Более высокие его дозы отрицательно действуют на синерезис [1666]. Интересно, что начальная скорость синерезиса сычужных сгустков молока от отдельных коров может различаться в 3 раза; добавление к молоку $CaCl_2$ сглаживает различия (Grandison et al., 1984). Стимулирующий эффект $CaCl_2$ на синерезис связывают со снижением pH; при постоянном pH он угнетает, а $MgCl_2$ ускоряет синерезис (Stoll, 1966) [1148].

Кроме снижения pH, $CaCl_2$ увеличивает активность ионов Ca, которая должна быть на определенном уровне для обеспечения синерезиса. Влияние концентрации Ca^{2+} зависит от типа молокосвертывающего энзима: добавление в молоко 1 мМ Ca^{2+} ускорило синерезис сгустка, полученного под действием сычужного порошка, оказало противоположное действие на синерезис сгустков, полученных с помощью реннилазы и супарена [374]. Добавление 2 мМ ускорило синерезис во всех вариантах, но в разной степени: супарен > реннилаза > реннин.

Добавление к молоку фосфатов, цитратов, оксалатов, EDTA при постоянном pH понижает содержание свободных ионов Ca^{2+} и скорость синерезиса [1148]. Небольшое увеличение ионной силы молока за счет добавления одновалентных ионов (например, NaCl) несколько снижает активность ионов Ca, содержание ККФ и немного увеличивает скорость синерезиса (Cheesman, 1962); дальнейшее увеличение концентрации одновалентных ионов резко ухудшает сычужную свертываемость и синерезис сгустка молока.

Обработка молока

Нагревание молока до температуры, при которой происходит денатурация сывороточных белков, снижает скорость синерезиса (рис. 2.24). Снижение скорости синерезиса почти линейно коррелирует со степенью денатурации β-лактоглобулина (Pearse et al., 1985) [1148]. Нагрев синтети-

ческого молока без сывороточных белков влияния на синерезис не оказывает. Причиной снижения скорости синерезиса является адсорбция денатурированного β-лактоглобулина параказеиновыми мицеллами. Добавление к молоку $\varkappa$-казеина уменьшает вредное действие нагревания на синерезис, поскольку в этом случае денатурированный β-лактоглобулин реагирует с добавленным $\varkappa$-казеином, находящимся вне параказеиновых мицелл.



Рис. 2.24. *Зависимость синеретических свойств сгустка от температуры пастеризация молока (1 – 72 °С; 2 – 80 °С; 3 – 90 °С)* [1701]

Часто применяют двойную тепловую обработку молока: термизацию или пастеризацию до хранения или созревания, и вторую – перед переработкой на сыр. Первую обработку проводят с целью предотвращения размножения вредной, в частности, психротрофной микрофлоры в молоке во время хранения и созревания. Вторая тепловая обработка уничтожает клетки посторонней микрофлоры, получившие сублетальные повреждения во время первой обработки и репарировавшие эти повреждения во время созревания молока, или попавшие в молоко после первой тепловой обработки. Влияние двойной тепловой обработки на синерезис сычужного сгустка показано на рис. 2.25 [1609].

Кроме этого, при хранении молока при низких температурах после первой тепловой обработки вторая тепловая обработка устраняет нежелательные изменения его технологических свойств, происходящие при низких температурах.

Раманаускас считает, что нежелательные изменения свойств сычужного сгустка в результате повышения температуры пастеризации молока до 82° С можно устранить его созреванием с закваской, при условии, что исходная кислотность сырого молока не превышает 18° Т [383, 1611].

Гомогенизация молока существенно уменьшает скорость синерезиса (Вайткус с соавт., 1970; Emmons et al., 1980). Это объясняется тем, что в результате гомогенизации изменяется состав оболочки жировых шариков и они начинают связываться с мицеллярным казеином, снижая способность сгустка к сжатию [1148]. Аналогичный процесс происходит при добавлении сгущенного молока в молоко для выработки сыра (Cheesman & Mabbit, 1968; Mulder & Walstra, 1974) [1148].

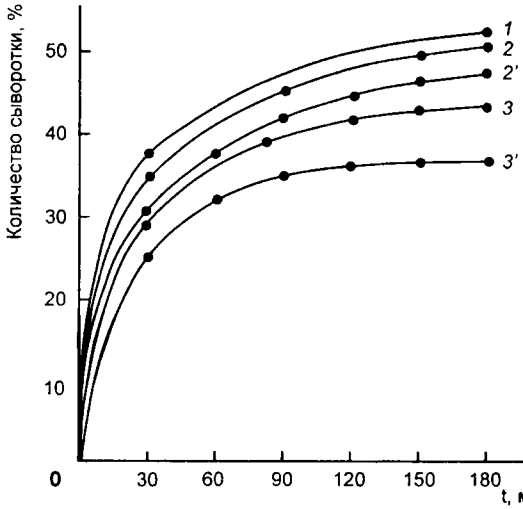


Рис. 2.25. *Кинетика выделения сыворотки из сычужного сгустка, полученного из молока после обработки при разных режимах (1 – сырое молоко; 2 – пастеризованное молоко при 65° С; 2′ – 2-я тепловая обработка при 72° С после 24-часового хранения; 3 – пастеризованное молоко при 72° С; 3′ – 2-я тепловая обработка при 72° С после 24-часового хранения)*

Вакуумирование молока в течение 10–40 мин при остаточном давлении 2,7–5,3 кПа снижало титруемую кислотность молока на 0,5–1,5° Т и ускоряло синерезис (рис. 2.26) [1454]. Увеличение количества сыворотки, выделяемой при центрифугировании разрушенного сгустка вакуумированного молока при 3000 мин$^{-1}$, было выше при 10-минутном вакуумировании и более низкой исходной кислотности молока, что можно в этом случае объяснить меньшим количеством удаляемого из молока углекислого газа и, следовательно, меньшим снижением кислотности вакуумированного молока, которая ускоряет синерезис.

Обсушка зерна из ультрафильтрованного молока шла более интенсивно, чем из обычного молока, пока концентрация общего белка не превысила 4,8%; дальнейшее повышение концентрации белка замедляло синерезис [1547].

2.6.4. Синерезис и содержание влаги в сгустке в конце обработки и в сыре

Когда сжатие сгустка прекращается, то прекращается и синерезис. Исследования спонтанного синерезиса сычужного сгустка обезжиренного молока при 30° С и pH 6,7 показали, что улавливаемый современными методами измерения синерезис закончился через 40 ч, толщина

сгустка при этом уменьшилась до 1/3 (van Dijk, 1982). При использовании прессования при 35° С и pH 5,2 наименьшее содержание влаги, которое можно получить в сгустке, равно 1,2 г на г параказеина [1148].

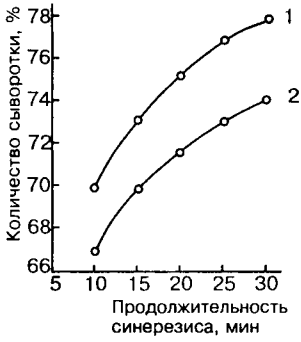


Рис. 2.26. *Влияние вакуумирования молока на синерезис сычужного сгустка из молока, вакуумированного летом (1 – продолжительность вакуумирования 10 мин; 2 – невакуумированное молоко)* [1454]

Снижение pH и содержания жира, а также повышение температуры вызывают постепенное, но существенное уменьшение содержания влаги по отношению к обезжиренным веществам сгустка.

Добавление в молоко $CaCl_2$ оказывает многоплановое влияние на синерезис, поскольку оно может изменить pH, концентрацию ионов Ca и ККФ, ионную силу молока. В свою очередь, эти факторы оказывают неодинаковое влияние на синерезис. Поэтому влияние хлористого кальция на содержание влаги в сгустке в конце синерезиса зависит от условий эксперимента: в условиях неконтролируемого pH оно может быть одним, при постоянном pH – другим. Geurts et al. (1972) обнаружили, что кусочки свежевыработанного сыра, выдерживаемые в водном растворе при pH 5,1, с добавлением Ca в количестве от 9 до 90 мМ, разбухали, т. е. впитывали влагу. Добавление в этом же опыте NaCl к раствору в количествах не менее 0,7 мМ и такого же, как в первом варианте, количества Ca, наоборот, вызвало потерю сыром влаги [1148]. По-видимому, внесение в молоко до 9 мМ Ca (0,036%) всегда снижает содержание влаги в сгустке в конце синерезиса. Внесение в молоко для производства сыра Кесо Бланка больше 0,05% $CaCl_2$ увеличивало влажность сыра и степень использования сухих веществ молока, но приводило к появлению горького вкуса [438].

Добавление до 0,5 мМ NaCl в молоко вызывает увеличение, больших количеств – снижение содержания влаги в свежевыработанном сыре при низком pH (Geurts et al., 1972). Это следует иметь в виду при посолке сыра в зерне.

Добавление в молоко Mn, Zn и Co в виде водных растворов хлоридов сократило продолжительность свертывания и обработки зерна на 17%, уменьшило содержание влаги в сыре после прессования на 1,7% [1600].

Содержание влаги оказывает мощное влияние на химический состав, микробиологические и биохимические процессы, показатели безо-

пасности и реализации сыра. Стабильная влажность – непременное условие производства сыра стабильного качества.

Между содержанием влаги в зерне после окончания его обработки ($W_з$) и влажностью отпрессованного сыра ($W_с$) существует тесная корреляционная связь. По Илюшкину [1390], эта зависимость выражается уравнением:

$$W_с = 0{,}8W_з - 3{,}73 \ (r = 0{,}7) \qquad (2.10)$$

Следует однако учитывать, что влажность сыра обусловливается не только синеретическими способностями сгустка, но и рядом других факторов, способных оказывать противоположное действие на влажность сыра. Так, например, повышение температуры второго нагревания ускоряет синерезис сгустка, но одновременно ингибирует кислотообразующую активность закваски, что вызывает обратное действие на синерезис. Поэтому уравнение (2.10) будет справедливо только при идентичной технологии выработки сыра.

Выработка сыра – временной процесс, и с течением времени факторы, влияющие на синерезис (температура, pH), существенно изменяются. Характер этих изменений может оказать сильное влияние на синерезис. Так, например, слишком высокая начальная скорость выделения сыворотки может привести к обсушке поверхностного слоя и образованию на поверхности зерна пленки (завариванию зерна), замедляющей последующий синерезис.

При формовании сыра из пласта под слоем сыворотки пласт может быть подвергнут внешнему давлению (до 400 Па), а также давлению, обусловленному разницей в плотности сгустка и сыворотки (меньше 100 Па) [1148]. В пласте идут три процесса, которые могут повлиять на влажность сыра: выделение сыворотки из сгустка (синерезис); выделение сыворотки из межзернового пространства, скорость которого зависит от размеров пор; снижение количества и размеров пор в результате деформации и склеивания зерен друг с другом. Деформация в основном вязкостная и зависит от внешнего давления и реологических свойств зерна, которые, в свою очередь, зависят от содержания в нем воды, pH, размеров зерна, степени его неоднородности, в частности, от наличия на нем поверхностной пленки.

Исследования процессов выделения сыворотки из сырного пласта проведены нидерландскими учеными (Heerink & Guerts, 1981) [1148]. Сгусток получали из обезжиренного молока без использования закваски. После разрезки, вымешивания и удаления части сыворотки отбирали смесь зерна с сывороткой и помещали в вертикальный сосуд; высота столба смеси составляла 30 см. Зерно быстро осаждалось под действием собственного веса с образованием пласта высотой 20 см, после чего на него через перфорированный диск накладывали груз; пласт сжимали до уровня 5 см. Прессование продолжалось 90 мин. Результаты опыта показаны на рис. 2.27. Проведено три серии опытов. В первой изменяли только давление на пласт. Зерно вымешивали 20 мин при 31° С. В этой

серии опытов при высокой начальной доле влаги в пласте начальная скорость выделения из него сыворотки была низкой – по-видимому, из-за легкой деформируемости зерна, в результате которой сужаются каналы для выхода сыворотки. После приложения нагрузки начальная скорость синерезиса стала быстро расти при увеличении нагрузки до ~ 0,6 кПа; при дальнейшем увеличении давления она изменялась незначительно. Несмотря на то, что количество удаленной влаги во время прессования в этой серии опытов было выше, чем в двух остальных, конечное содержание влаги в пласте было наибольшим по сравнению с другими сериями, даже при высоких давлениях прессования. Таким образом, прессование не может устранить главный недостаток слабого сгустка, обусловливающий выработку сыра с повышенной влажностью. Прочность сгустка играет важную роль в его синерезисе, когда зерно находится в пласте под слоем сыворотки. Следует однако сказать, что кислотность смеси в этих опытах поддерживалась на низком уровне из-за отсутствия закваски, что способствовало слипанию зерен.

Во второй серии этих опытов изменяли только время вымешивания зерна при температуре 31° С; давление прессования зерна после перемешивания равнялось 0,4 кПа. V_{in} довольно быстро повышалась при увеличении продолжительности вымешивания с 20 до 50 мин, после чего возрастала очень медленно, а при 100-минутном и более продолжительном вымешивании зерна устанавливалась на постоянном уровне. Это обусловлено тем, что чем продолжительнее вымешивание, тем больше удаляется сыворотки из зерна во время вымешивания и тем большие усилия требуются для удаления оставшейся в зерне сыворотки. Конечная влажность зерна заметно уменьшалась только при увеличении продолжительности вымешивания до 50–60 мин (рис. 2.27). Ускорение выделения сыворотки из зерна при увеличении продолжительности его вымешивания до определенного уровня можно объяснить упрочением и снижением деформируемости зерна. Доля влаги в пласте в конце прессования при вымешивании зерна в течение 50 мин была ниже на несколько процентов, чем в пласте при максимальном давлении прессования в предыдущей серии опытов. Продолжительность вымешивания зерна оказывает более сильное влияние на содержание влаги и выход сыра, чем прочность сгустка в момент разрезки [895].

При выработке низкожирных сыров зерно получается более тяжелым и требуется более интенсивное вымешивание для того, чтобы предотвратить его комкование, особенно после слива части сыворотки [640].

В третьей серии опытов изменяли температуру от 20 до 40° С при вымешивании зерна в течение 80 мин и давлении прессования 0,4 кПа. V_{in} при повышении температуры вымешивания увеличивалась с постепенно снижающимся ускорением (рис. 2.27). Увеличение скорости сопровождается почти линейным снижением конечной доли влаги в пласте. Следует напомнить, что столь же быстро увеличивался синерезис сгустка при повышении температуры (рис. 2.14). Доля влаги в пласте в конце прессования

при вымешивании зерна при температурах 30–40° С была заметно ниже, чем в предыдущих сериях опытов. При этом доля удаленной из пласта влаги была сравнительно небольшой, что свидетельствует об удалении большего количества влаги из зерна во время вымешивания при температурах выше 31° С (в предыдущих сериях зерно вымешивали при 31° С). Результаты этой серии опытов свидетельствуют об исключительной важности температуры второго нагревания для получения сыра с требуемой влажностью. Однако выбор температуры второго нагревания зависит не только от желаемой влажности сыра, но и от термоустойчивости микрофлоры закваски. Температуры II нагревания и взаимосвязанный с этим состав заквасок – важнейшие критерии в классификации сыров.

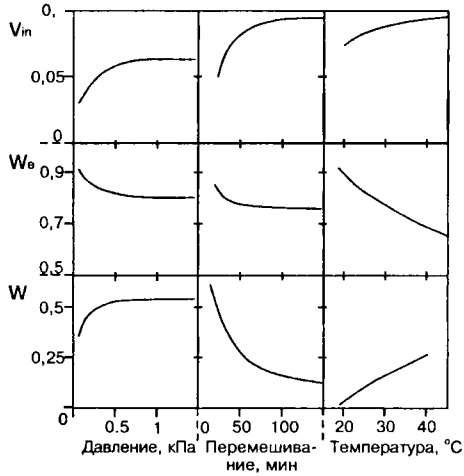


Рис. 2.27. *Изменение содержания влаги в сырном пласте под слоем сыворотки:*

V_{in} – начальная скорость выделения сыворотки после приложения внешней нагрузки ($-d \ln V/dt$, где V – объем выделяющейся сыворотки за t мин); W_e – доля влаги в пласте в конце выдержки; W – доля выделившейся сыворотки по отношению к ее первоначальному содержанию в пласте. Переменные факторы: внешнее давление (при продолжительности вымешивания 20 мин); время вымешивания, включая разрезку сгустка, до приложения давления; температура вымешивания и сжатия (при продолжительности вымешивания 80 мин). В вариантах опыта, когда температура не менялась, она равнялась 31 °С, в вариантах с постоянным давлением оно равнялось 0,4 кПа [1148]

По прошествии определенного времени сыворотку сливают, пласт разрезают и укладывают в формы, где синерезис продолжается. Формо-

вание сыра из пласта идет во времени, задержка с формованием ведет к снижению содержания влаги в сыре. Если формование из одного пласта продолжается 35 мин, то сыр в последних головках будет содержать на 0,5% меньше влаги, чем сыр в первых головках [1638]. При формовании сыров насыпью смесь сыворотки с зерном направляют в отделитель сыворотки, представляющий вращающийся перфорированный цилиндр. При вращении цилиндра сыворотка выходит из него через отверстия, а зерно остается в отделителе, откуда его выкладывают в перфорированные формы, в которых синерезис продолжается.

Из рис. 2.20 видно, что извлечение сгустка из сыворотки приводит к резкому увеличению скорости синерезиса. Причиной этого является скачкообразное повышение давления в воздушной среде, обусловленное силой тяжести. Скорость синерезиса в этом случае также будет зависеть от возможности выхода сыворотки из сгустка, а, следовательно, от прочности сгустка.

Предел прочности (*Pr*) тесно коррелирует с влагосодержанием зерна (W_3). Уравнение линейной регрессии между этими величинами, по Илюшкину [1390], имеет следующий вид:

$$Pr = 249{,}2 - 5{,}26W_3 \ (r = -0{,}86), \qquad (2.11)$$

где Pr – предел прочности, Н/м; W_3 – содержание влаги в зерне, %.

Если зерно извлечь из сыворотки при высоком содержании в нем влаги и, следовательно, низкой прочности, то оно быстро будет деформироваться и каналы для выхода сыворотки перекроются. Это замедлит выход сыворотки во время самопрессования и прессования в сырных формах и увеличит влажность отпрессованного сыра. Следовательно, зерно нужно отделять от сыворотки, когда оно будет достаточно обезвоженным и прочным.

Scott Blair & Coppen (1940), основываясь на этом, разработали метод определения времени, когда нужно отделять зерно от сыворотки («pitching point»). Метод заключается в том, что определенный объем смеси сыворотки с зерном помещают в перфорированный цилиндр и выдерживают определенное время для того, чтобы сыворотка вышла из цилиндра. Далее определяют плотность смеси, равную отношению веса сгустка к высоте его столбика в цилиндре. Если измеряемая плотность будет выше установленной величины, то это будет свидетельствовать о слишком большой влажности и низкой прочности сгустка; при прочном зерне высота столбика сгустка будет большой, так как пустоты, образующиеся в сгустке после выхода сыворотки, заполнятся воздухом и плотность смеси будет низкой (в слабом сгустке зерно будет деформироваться с образованием сплошной массы). Отделять зерно от сыворотки нужно при минимальных отклонениях измеряемой плотности от установленного уровня. На измеряемую таким образом плотность смеси сыворотки с зерном оказывает влияние не только содержание влаги и прочность зерна, но также pH и наличие пленки на поверхности зерен.

Более простой способ определения готовности сырного зерна к формованию предложен омскими учеными [1388]. Он основан на том, что плотность сырного зерна по мере удаления из него сыворотки возрастает и к моменту готовности его к формованию достигает определенной величины. Для определения этого момента готовят рабочую жидкость, например, раствор поваренной соли, плотность которого соответствует плотности сырного зерна, готового к формованию. В процессе обработки после второго нагревания периодически отбирают 2–3 зерна среднего размера и помещают их в рабочий раствор. О плотности зерна судят по характеру его погружения в раствор.

Сыры обычно прессуют при давлении 10–100 кПа [1148]. Если сгусток не очень сухой, такое давление способствует выделению большого количества сыворотки. Однако применение давления на начальных стадиях или применение слишком большого давления уменьшает суммарное количество выделяющейся из сгустка сыворотки по сравнению с прессованием после некоторого периода самопрессования или прессования при пониженном давлении (Czular, 1959). Различия в содержании влаги могут достигнуть нескольких процентов. По-видимому, в результате прессования на периферии головки создается труднопроницаемый для сыворотки слой. Учитывая это, Розанов рекомендует после формования сыров проводить в течение одного часа самопрессование, далее в течение 30 мин прессовать сыр при нагрузке [713].

При одинаковом содержании влаги в зерне большая головка сыра потеряет больше влаги во время прессования, чем маленькая, из-за более медленного остывания и более быстрого нарастания кислотности сырной массы. Разница в содержании влаги в сырах с разными размерами головки может достигать 2%. Если зерно пересушено (меньше 41% влаги в несоленом полножирном сыре типа Гауда), содержание влаги будет более низким в маленьких головках (на 1–2%), что обусловливается меньшей протяженностью пути выхода сыворотки. Сухой сгусток теряет больше сыворотки при пониженных температурах, что связано с его большей деформируемостью при высоких температурах. Различия в температуре сырной массы в пределах головки приводит и к различиям в содержании влаги: сыворотка идет туда, где температура и давление ниже (Geurts, 1978, 1972). Если головка сыра долго лежит в одном положении, то содержание влаги в верхней части головки будет выше, чем в нижней.

Чеддеризация сырной массы повышает содержание влаги на 1–2%, что связано с большой деформируемостью сырных зерен во время чеддеризации, затрудняющей выход сыворотки.

Разбавление сыворотки водой приводит к небольшому снижению влажности сыра (Berg & Vries, 1975). Однако оно часто сопряжено с изменениями температуры и интенсивности вымешивания, что также влияет на скорость синерезиса (Grootevheen & Geurts, 1954). В связи с этим добавление воды в сыворотку может увеличить ее содержание в зрелом сыре на 1–2% [1435, 1487]. Наиболее сильное влияние на содержание вла-

ги в сыре из технологических факторов оказывает температура II нагревания. При продолжительности II нагревания 15 мин, вымешивании зерна после этого в течение 15 мин и продолжительности прессования 2,5 ч содержание влаги в круглом голландском сыре (*Вл*, %) зависит от температуры II нагревания (*Т*,° С) следующим образом [1598]:

$$Вл = 48{,}2 - 1{,}3\,(T - 37) \qquad (2.12)$$

Посолка сыра влияет на содержание в нем влаги. Посолка сухой солью может увеличить содержание влаги, посолка в рассоле после прессования сопровождается значительным снижением влажности сыра (Geurts et al., 1980). Снижение влажности при этом пропорционально количеству поглощенной соли: теряется 1,7–3,2 г воды/г соли. Соотношение повышается при увеличении pH и температуры сыра, повышении концентрации рассола.

2.7. Кислотное и кислотно-сычужное свертывание

2.7.1. Образование кислотного сгустка

Кислотное свертывание молока или сливок применяют для производства свежих кисломолочных сыров, спрос на которые достаточно высок. *Кислотное свертывание* заключается в медленном подкислении находящегося в покое молока или сливок до образования сгустка (геля). Подкисление проводят чаще всего путем сбраживания лактозы молочнокислыми бактериями, реже – внесением в молоко кислот, например, кислой сыворотки, глюконо-δ-лактона, который медленно гидролизуется с образованием глюконовой кислоты.

При медленном росте кислотности в мицеллах происходят следующие главные изменения: солюбилизация мицеллярного фосфата кальция (МФК), т. е. выход его из мицеллы и растворение в сыворотке; снижение отрицательного поверхностного заряда до нуля по достижении изоэлектрической точки казеина (pH 4,6 при физиологических температурах). Эти изменения вызывают другие физико-химические (солюбилизацию казеинов, уменьшение гидродинамического и внутреннего объемов и др.) и структурные изменения, в результате чего мицеллы теряют устойчивость и молоко или сливки свертываются.

Изменения в мицеллах казеина при снижении pH подробно рассмотрены в разд. 2.3. Весь МФК превращается в растворимую форму и выходит из мицеллы при pH 5,0–5,4, т. е. еще до достижения изоэлектрической точки (рис. 2.4). В момент полного выхода МФК из мицеллы в ней остается 14–16% Са от общего содержания в молоке (3,3–4,0 моля Са на моль казеина) в виде казеината кальция, который не входит в МФК. Дальнейшее снижение pH сопровождается выходом органического кальция из мицеллы; органический фосфор остается в составе казеинов. *Полная потеря МФК и значительное снижение содержания органического Са – главное отличие мицелл казеина в кислотном сгустке от параказеиновых мицелл.*

Наблюдения под электронным микроскопом показывают, что выход МФК из мицелл (pH 5,2–5,3 при 20–30° С) сопровождается появлением большого количества маленьких частиц (возможно, субмицелл или новых образований) (Roefs et al., 1989), которые при дальнейшем снижении pH начинают снова агрегироваться и образуют новый гель в изоэлектрической точке [402]. *Таким образом, кислотный сгусток образуется мицеллами казеина другого состава, чем сычужный.*

МФК в параказеиновых мицеллах играет важную роль при связывании β-казеина с другими казеинами (табл. 2.7). Потеря мицеллой МФК сопровождается выходом из нее части казеинов, и прежде всего β-казеина (рис. 2.3). Количество растворенных казеинов увеличивается при низкой температуре. Максимальное содержание растворенных при 20° С казеинов (около 30% от общего их содержания в молоке) наблюдается при pH ~ 5,4 [402]. После достижения максимума солюбилизации количество растворенных казеинов, при снижении pH по направлению к изоэлектрической точке, снова снижается (они образуют новые реконструированные, не содержащие МФК мицеллы) и в изоэлектической точке достигает минимума. Следовательно, на смену связей через МФК в реконструированных мицеллах казеина появились новые связи, вероятно гидрофобные.

Поверхностный заряд при снижении pH снижается немонотонно: он падает до нуля при pH ~ 5,4, когда происходит дезинтеграция мицелл, затем снова увеличивается при снижении pH примерно до 5,0 и падает до нуля при pH 4,6 [402]. Свертывание при физиологических температурах не происходит при первой полной нейтрализации заряда, поскольку новые мицеллы к этому моменту не успевают сформироваться.

Также немонотонно изменяется степень гидратации мицелл при снижении pH (рис. 2.2). Сначала она немного снижается (до pH около 6,0), затем достигает максимума при pH 5,3 и снова начинает снижаться до минимума при pH 4,6. При любом значении pH она намного превышает степень гидратации сычужного сгустка. По-видимому, степень гидратации явилась результатом двух противоположных процессов: снижения поверхностного заряда, уменьшающего степень гидратации, с одной стороны, и увеличения пористости мицелл за счет выхода из них части казеинов, с другой стороны. Пространство в мицелле, освобожденное выходящими из нее МФК и казеинами, заполняется сывороткой, что и увеличивает степень гидратации мицеллы. В результате этого размеры мицеллы при снижении pH до 5,5 изменяются незначительно, несмотря на потерю МФК и части казеинов [402].

При снижении pH до 5,6 структурных изменений в мицеллах не выявлено, кроме исчезновения мицелл малого размера (Vreevan et al., 1989) [402]. При pH ~ 5,2 начинают образовываться небольшие агрегаты казеина в отдельных зонах, которые чередуются с зонами, свободными от казеина; затем эти агрегаты начинают связываться друг с другом, образуя короткие пряди. Эти пряди постепенно увеличиваются в длину, ширина их на начальных этапах составляет несколько мицелл. Затем

они начинают образовывать мелкоячеистую (мелкопористую) пространственную структуру, поры которой заполняет сыворотка, т. е. образуется гель. Кислотный гель, как и сычужный, гетерогенен: участки с мелкими порами чередуются в нем с более плотными образованиями и крупными порами; под микроскопом оба типа геля выглядят сходно.

Агрегации мицелл способствует снижение поверхностного заряда и толщины гидратного слоя. Концентрация мицелл в отдельных зонах и последующая их агрегация при повышении ионной силы среды происходит из-за солюбилизации МФК и Ca_0 и гидролиза фосфосерильных групп казеинов [402], что снижает силы отталкивания.

Трехмерная пространственная структура, охватывающая весь объем сквашиваемого молока, *образуется только тогда, когда силы притяжения мицелл медленно преодолевают силы отталкивания*. При медленном подкислении реконструированные мицеллы успевают соединиться в пряди, которые с помощью поперечных связей образуют трехмерную структуру, удерживающую в своих ячейках сыворотку. Характер связей, скрепляющих эту структуру, отражен в таблице 2.5. От структуры сычужного сгустка она отличается отсутствием связей через коллоидный фосфат кальция.

При быстром нарастании кислотности, высокой температуре, перемешивании мицеллы казеина быстро соединяются в массу, которая выпадает в осадок, что используют при коагуляции молока термокислотным способом. Это же может произойти при слишком медленном нарастании кислотности, например, в результате воздействия бактериофага на микрофлору закваски. В этом случае число участков в мицеллах, через которые они могут связаться друг с другом, долгое время остается недостаточным для образования пространственной системы, охватывающей весь объем заквашиваемого молока, и отдельные агрегаты мицелл успевают выпасть в осадок или сконцентрироваться в верхнем слое молока [402].

2.7.2. Факторы, влияющие на свойства кислотного и кислотно-сычужного сгустка

Качество кисломолочных сыров, так же как и сычужных, во многом определяется свойствами сгустка. От них зависят такие показатели, как однородность сырной массы, ее способность удерживать влагу во время хранения и реализации. Чтобы обеспечить получение необходимых показателей продукта, сгусток должен быть достаточно прочным, но не грубым. Следует отметить, что отношение к синерезису в производстве кисломолочных сыров иное, чем в производстве твердых сыров, так как они содержат значительно больше влаги, придающей нежность их консистенции. В свою очередь, высокое содержание влаги ограничивает продолжительность их хранения и реализации, делает невыгодной транспортировку на большие расстояния.

Состав и содержание белков

Высокое содержание белков в молоке обеспечивает формирование более плотного сгустка (большое количество белковых прядей на едини-

цу объема молока, более разветленную и прочно связанную структурную сетку, меньшие размеры пор, и, следовательно, лучшую влагоудерживающую способность) [731, 732]. Снижение отношения содержания казеина к содержанию сывороточных белков с 4,6 до 3,2 позволяет получить нежный, мелкопористый, хорошо удерживающий влагу сгусток, повышение отношения содержания казеина к содержанию сывороточных белков делает сгусток и свежий сыр более твердым и грубым.

Увеличение содержания жира при постоянном содержании казеина делает консистенцию сгустка и сыра более нежной. Получению сгустка, хорошо удерживающего влагу, способствует гомогенизация молока, изменяющая оболочки жировых шариков и вовлекающая их в образование белкового каркаса [1148, 1251]. Применение более жесткой тепловой обработки молока, вызывающей денатурацию сывороточных белков, также приводит к вовлечению их в сгусток и повышению его влагоудерживающей способности [493].

Тепловая обработка молока

В мировой практике применяют следующие режимы тепловой обработки молока для выработки этой группы сыров: 72–76° С, 15–25 с; 85° С, 10–40 мин; 90–95° С, 2–5 мин; 98° С, 0,5–2,0 мин; 140° С, 2–8 с [402]. Высокотемпературная обработка молока способствует получению нежной гомогенной консистенции кисломолочных сыров.

Молоко, пастеризованное при 90–95° С, в котором больше 80% сывороточных белков денатурировано, образует нежный сгусток с пониженной способностью к спонтанному выделению сыворотки. Этот эффект обусловлен образованием при помощи дисульфидных связей комплексов денатурированного β-лактоглобулина с α-лактальбумином и $\varkappa$-казеином [748]. Эти комплексы представляют нитевидные образования, простирающиеся над поверхностью мицелл [1136]. При последующем нарастании кислотности и образовании геля они препятствуют тесному слиянию мицелл благодаря стерическому отталкиванию, увеличивают гидродинамический радиус мицелл, уменьшают размеры пор, тем самым обеспечивая формирование нежной структуры, хорошо удерживающей сыворотку [402].

Кроме этого, в результате взаимодействия денатурированных сывороточных белков с $\varkappa$-казеином несколько снижается ζ-потенциал, что способствует началу свертывания молока при более высоком pH, чем у ненагретого молока (5,35 и 5,1 соответственно) [519].

Однако при высокотемпературной обработке молока, в связи с малой прочностью сгустка, образуется больше сырной пыли, теряемой вместе с сывороткой. Добавление в обезжиренное молоко, подвергнутое тепловой обработке при 79,4° С в течение 30 мин, 5 мл жидкого препарата реннета на 454 кг молока позволило получить прочность сгустка в производстве сыра Коттедж такую же, как из молока, пастеризованного при 72° С в течение 16 с [1773]. Однако и в этом случае количество сырной пыли в сырах из молока, подвергнутого жесткой тепловой обработке, было на 62% выше, чем в контроле, так как сгусток в опытных вариантах был более хрупким.

Температура свертывания

В производстве кисломолочных сыров функции кислотообразования обычно выполняют мезофильные молочнокислые бактерии, и температуру свертывания устанавливают с учетом создания благоприятных условий для их размножения (25–35° С). Если в производстве принимают участие термофильные молочнокислые бактерии и бифидобактерии, то температура свертывания повышается до 37–40° С. Чем выше температура свертывания, тем при более высоком pH начинает образовываться сгусток (pH 5,1 при 30° С и 5,5 при 43° С), тем грубее он становится и тем выше его склонность к спонтанному выделению сыворотки [402, 1593]. Это можно объяснить действием различных, в том числе действующих в противоположных направлениях, факторов: степенью выхода из мицелл казеинов, увеличением скорости кислотообразования и упрочением гидрофобных взаимодействий с ростом температуры, увеличением ζ-потенциала в интервале температуры от 6 до 45° С. Эта закономерность исчезает при высоких температурах, вызывающих денатурацию казеина.

Добавление сычужного энзима

Обычно при производстве кисломолочных сыров и часто – творога, через 1–2 ч после внесения закваски (pH 6,1–6,3) в молоко добавляют небольшое количество сычужного порошка (0,5–1,0 мл жидкого или 0,5–1,0 г сухого препарата активностью 100 тыс. ед. на 100 кг молока). Сычужный энзим гидролизует *æ*-казеин и уменьшает диссоциацию казеинов при дальнейшем снижении pH. Оба эти фактора способствуют агрегации мицелл на ранних стадиях свертывания. Благодаря этому сгусток становится достаточно прочным для того, чтобы начинать его разрезку при pH 4,8–4,9 (по сравнению с pH 4,7 для чисто кислотного сгустка [985]). Эммонс и др. [1773] считают, что при выработке сыра Коттедж с добавлением жидкого препарата реннет (примерно 1 мл/100 кг) в обезжиренное молоко, пастеризованное при 79,4° С в течение 30 мин, разрезку сгустка лучше начинать при pH 5,15–5,20; разрезка при более низких значениях pH давала больше сырной пыли [1609]. Если сгусток образуется при pH ниже 5,15, то по своим свойствам он становится кислотным, несмотря на применение молокосвертывающих энзимов (Roefs, 1986) [1132].

Скорость гелеобразования

Ускорение гелеобразования приводит к тому, что гель начинает образовываться при более высоком pH, становится грубее и более склонен к выделению сыворотки [124]. Скорость гелеобразования можно повысить увеличением дозы и изменением состава закваски, проведением свертывания при оптимальной температуре для развития микрофлоры закваски, а при непосредственном подкислении – увеличением количества вносимой в молоко кислоты. Как уже указывалось, быстрое подкисление молока до pH 4,6 приводит не к образованию геля, а к выпадению белков в осадок. Меры по активизации кислотообразования принимают при пониженной способности молока к свертыванию, например, весной. Можно подкислять

молоко при 0–4° С до pH 4,6, а затем медленно (0,5° С/мин) повышать температуру находящегося в покое молока до 30° С.

2.7.3. Реологические характеристики кислотного сгустка

Забодалова и Паткуль исследовали процесс структурообразования при кислотном свертывании молока кинетико-реологическим методом по изменению эффективной вязкости [1380]. По аналогии с сычужным свертыванием, они выделили четыре стадии кислотного свертывания: индукционный период, когда вязкость практически не меняется; стадию флокуляции (наибольшой рост вязкости); метастабильного равновесия (вязкость не меняется); синеретическую стадию (вязкость снижается). Продолжительность стадий зависит от состава и степени зрелости молока, кислотообразующей активности закваски, температуры. Отношение суммы времени индукционного и флокуляционного периодов к продолжительности индукционного периода – величина практически постоянная и может служить критерием завершенности процесса структурообразования. Во время свертывания молока термофильным стрептококком и болгарской палочкой последнее перемешивание сгустка можно проводить по истечении промежутка времени, в два раза превышающего продолжительность индукционного периода. Это обеспечивает хорошую консистенцию и отсутствие отделения сыворотки в продукте.

Кислотный сгусток, как и сычужный, имеет вязкоэластичные свойства: при воздействии напряжений он обладает текучестью и эластичной деформацией. Сопротивление его действию внешних напряжений характеризуется модулем сдвига, равным отношению напряжения сдвига к деформации сдвига. Зависимость модуля эластичности от количества и типа связей в сгустке при напряжениях, намного меньших предела прочности, выражается уравнением (4) (разд. 2.5.4). Вязкостные свойства сгустка характеризуются модулем потерь (G'') и тангенсом потерь ($\mathrm{tg} = G'/G''$), где G' модуль запаса (storage modulus) [402, 1132, 1149]. Для характеристики реологических свойств кислотных сгустков и свежих кисломолочных сыров также используют вязкость и другие показатели.

Реологические показатели кислотных сгустков, определяемые разными авторами, очень трудно сравнивать, так как они сильно зависят от методов их определения. Об этом красноречиво свидетельствуют результаты исследований голландских ученых, приведенные на рис. 2.15. На нем показано изменение модуля эластичности кислотных сгустков в сравнении с сычужным сгустком [1132]. В этом опыте кислотные сгустки получали двумя способами. В первом восстановленное молоко подкисляли соляной кислотой до pH 4,6 при 1° С, затем нагревали со скоростью 0,5° С в мин. Гель начал образовываться при температуре выше 10° С, т. е. спустя 18 мин после внесения кислоты. По второму способу в молоко вносили ацидоген – глюконо-δ-лактон (ГДЛ), pH в нем снизился до 4,6 через 24 ч при 30° С. Для предотвращения развития микрофлоры в обоих случаях в молоко вносили 0,01% тиомерсала. Отсчет

времени вели с начала нагревания молока или добавления в него ГДЛ, в сычужном сгустке – с момента внесения сычужного порошка.

G' кислотных сгустков возрастал линейно по отношению к времени выдержки геля на всем протяжении наблюдения (семь суток), однако в варианте с подкислением HCl он был намного выше, чем в варианте с ГДЛ, и существенно выше, чем в сычужном сгустке. Аналогичные результаты получены в другом опыте, проведенном в этой же лаборатории (табл. 2.7), в котором модуль эластичности кислотного сгустка, полученного при быстром подкислении молока, в 10 раз превышал соответствующий модуль сычужного сгустка [1149]. Этот гель не показывал признаков синерезиса в течение нескольких часов даже после разрезки и смачивания. Кислотный сгусток, полученный в результате роста в обезжиренном молоке молочнокислых бактерий, может выделять сыворотку сразу после разрезки [1148]. Авторы опытов не объясняют разницу в значениях модуля кислотных сгустков. По-видимому, она обусловлена тем, что в варианте с внесением HCl скорость образования сгустка была слишком высокой, во втором – слишком низкой, в результате чего в первом варианте сгусток оказался слишком грубым, а во втором – слишком нежным. Таким образом, при медленном нарастании кислотности в варианте с внесением в молоко ГДЛ модуль G' сгустка, характеризующий его эластичность, был значительно ниже, при слишком быстром – значительно выше, чем в сычужном сгустке. При производстве свежих кисломолочных сыров молоко свертывается, в зависимости от вида сыра, от 0,9 (Останкинский) до 6–16 ч (Клинковый, Домашний), что должно сопровождаться широким диапазоном прочности их сгустков.

Модуль эластичности сычужного сгустка достиг максимума (~180 Па) через 9 ч после внесения в него реннина, после этого через 12–24 ч он стал уменьшаться. Проницаемость сычужного сгустка возрастала в течение 24 ч после его образования (Roef, 1986) [1132]. Снижение G' и увеличение проницаемости сычужного сгустка возможны в том случае, если часть казеиновых прядей в этом сгустке со временем разрушится, количество и размеры пор при этом увеличатся. В кислотных сгустках G' все время возрастал, а проницаемость не изменялась. Тангенс потерь сычужного сгустка был выше, чем в кислотных. В обоих вариантах кислотного сгустка тангенс потерь был одинаков.

Тангенсы потерь сычужного и кислотных сгустков при высокой скорости вращения цилиндра в динамическом реометре, использованном для его определения, были почти одинаковыми, при низкой скорости он был значительно выше в сычужном сгустке (рис. 2.16). Эти различия кислотного и сычужного сгустков можно объяснить только большей мобильностью связей белок-белок в сычужном сгустке, в котором связи через МФК играют роль своеобразных шарниров.

Значения модулей (*G'* и *G''*) снижались в сычужном и кислотных сгустках при повышении температуры после их образования, несмотря на важность гидрофобных взаимодействий в формировании сгустков

(табл. 2.6) [1132]. Авторы этой работы объясняют данное противоречие тем, что повышение температуры усиливает гидрофобные взаимодействия внутри мицелл, что приводит к их сжатию и ослаблению связей между ними. Доказательством этого является то, что в сычужном сгустке понижение температуры вначале вызывает снижение G' и только после снижения он начинает увеличиваться, достигая после ~ 30 мин более высокого уровня, чем тот, который был до начала снижения температуры. О сжатии мицелл при повышении температуры свидетельствует также уменьшение их гидродинамического объема (Darling, 1982) [1132]. Сжатие мицелл ослабляет взаимодействие между ними, что и вызывает снижение значений модулей при подъеме температуры. Независимо от причины, уменьшение прочности обоих сгустков с повышением температуры является экспериментально установленным фактом.

Величины G' и G'' кислотных сгустков молока зависят от pH и ионной силы. Максимального значения они достигали при pH 4,5 (сгусток не образовывался при pH выше 4,9 и ниже 4,5). Увеличение или уменьшение ионной силы изменением содержания NaCl уменьшает прочность и вязкость сгустков. Влияние pH и ионной силы на прочность сгустков осуществляется через связи между положительно и отрицательно заряженными участками мицелл (табл. 2.6).

Вязкость кислотного сгустка снижается при увеличении времени деформации, что указывает на слабую сопротивляемость его каркаса напряжениям сдвига [402]. Увеличение содержания белка в молоке повышает вязкость и модуль G' сгустка и свежих сыров.

2.7.4. Синерезис кислотного сгустка

Скорость синерезиса кислотного сгустка подчиняется тому же закону, что и скорость синерезиса сычужного сгустка (уравнение 6) [402, 1149]. Она пропорциональна давлению синерезиса (P), коэффициенту проницаемости сгустка (B) и обратно пропорциональна вязкости сыворотки (η) и длине пути (l), который должна пройти сыворотка.

Синерезис кислотного сгустка оценивают по изменению толщины тонкого его среза в собственной сыворотке, по количеству выделяющейся сыворотки под действием собственного веса или при центрифугировании неразрушенного сгустка. Последний метод особенно удобен для определения окончания синерезиса.

Кисломолочные сыры в отношении синерезиса можно разделить на две группы. К первой группе относится творог, Коттедж, Айболит, Славянский сыр. В этих сырах после получения и определенной выдержки сгусток концентрируют путем разрезки, перемешивания, нагревания, удаления выделившейся во время обработки сгустка сыворотки с последующим самопрессованием или отделением частично обезвоженного сгустка от сыворотки с помощью центрифугирования. Синерезис сгустка под действием внешних напряжений во время выработки этих сыров – необходимый элемент их технологии. При выработке сыров второй группы перед свертыва-

нием молоко нормализуют до определенного содержания сухих веществ, после свертывания сгусток упаковывают без отделения сыворотки. К этой группе принадлежит сыр Фромаж фре, многочисленные сырные пасты.

Коэффициент проницаемости, давление и скорость синерезиса кислотных сгустков намного ниже, чем сычужных (табл. 2.6), что не дает возможности сконцентрировать их с помощью мягкой обработки в такой же степени. Однако в этих сырах, предназначенных для потребления в свежем виде, высокая концентрации сухих веществ резко ухудшает консистенцию, и, следовательно, в ней нет необходимости (в сычужных сырах консистенция становится пластичной при более высоком содержании сухих веществ в результате протеолиза во время созревания).

Добавление молокосвертывающих энзимов ускоряет синерезис сгустков, полученных при pH ниже 5, скорость синерезиса увеличивается с увеличением количества добавляемого энзима (Emmons et al., 1959) [1148]. Однако и в этом случае сгусток из молока с высокой кислотностью до внесения молокосвертывающего фермента (pH ниже 5) обладал низкой синеретической способностью (Emmons et al., 1959) [1148].

Внешние напряжения, например, при центрифугировании кислотного сгустка, резко ускоряют синерезис.

Нет достаточных данных о влиянии температуры на синерезис кислотных сгустков. Однако отдельные сообщения свидетельствуют о значительном синерезисе сквашенного молочнокислыми бактериями молока после разрезки при 6 и даже 3° С (Harwalker & Kalab, 1983; Modler et al., 1983) [1148].

Для кисломолочных сыров обеих групп одним из главных недостатков является выделение сыворотки в процессе хранения и реализации под действием спонтанного, вызванного собственным весом и внутренними напряжениями синерезиса. Этот синерезис в небольшой степени присущ и сычужным сырам, что обусловливает их усушку в процессе созревания и реализации, но в кисломолочных сырах он значительно выше из-за высокого отношения влаги и белка, в результате чего белки не способны удержать всю влагу в сыре. Этот недостаток резко сокращает допустимые сроки реализации свежих сыров.

В состоянии покоя при температуре не выше 30° С и не очень большой поверхности контакта с воздухом хорошо сквашенное молоко не показывает синерезиса; нарушения состояния покоя вызывают синерезис кислотного сгустка. Степень спонтанного синерезиса свежих сыров увеличивается при недостаточно высокой температуре тепловой обработки молока и механических воздействиях на сыр во время расфасовки и транспортировки и зависит от степени обогащения молока белками перед выработкой сыра, снижения pH, колебаний температуры хранения и реализации, а также в связи с протеолизом, вызываемым микрофлорой сыра, в основном микрофлорой закваски. Кислотность сыров повышается в результате жизнедеятельности микрофлоры заквасок, и особенно в результате загрязнения заквасок или непосредственно

сыра молочнокислыми палочками, обладающими значительно большей кислотоустойчивостью по сравнению с закваскаами лактококков, обычно применяемых в производстве свежих сыров. Повышение температуры интенсифицирует развитие микрофлоры в сырах. Даже форма упаковки может влиять на синерезис: в упаковке с наклонными стенками сыр может неплотно прилегать к стенкам, в результате возникают дополнительные напряжения, стимулирующие выделение сыворотки [402].

В кисломолочных сырах большое влияние на синерезис оказывает давление на сырную массу после отделения сыворотки, состав молока и технологические режимы его обработки. Существует обратное отношение между содержанием сухих веществ в молоке и прочностью сгустка, с одной стороны, и склонностью сыров к синерезису. Коэффициент проницаемости сгустка (B) снижается при повышении содержания казеина в молоке.

Modler et al. исследовали взаимоотношения между структурой йогурта и склонностью к синерезису сгустка из обезжиренного молока (3,5% белка) с добавлением до содержания 5% белка сухого обезжиренного молока (СОМ), казеината (К), концентрата белков молока (КБМ) и белкового сывороточного концентрата (КБС). Соотношение казеина и неказеиновых белков в обогащенном обезжиренном молоке равнялось 4,56 (К); 2,85 (СОМ и КБМ); 1,08 (КБС) [731]. Консистенция сгустков с повышением отношения казеина к неказеиновым белкам становилась все более грубой, прочность сгустков увеличивалась, как и степень слияния белковых частиц друг с другом, так как в вариантах с высоким соотношением нехватало сывороточных белков для того, чтобы воспрепятствовать контактам казеинов различных белковых частиц. Степень синерезиса была самой низкой в варианте с обогащением обезжиренного молока СОМ, максимальной – в варианте с КБС.

Результаты этого опыта противоположны ранее отмеченной закономерности влияния тепловой обработки молока на реологические показатели кислотных сгустков (2.7.2), согласно которой ужесточение режима тепловой обработки увеличивает степень денатурации сывороточных белков, что делает сгусток более нежным и менее склонным к синерезису, так как денатурированные сывороточные белки уменьшают пористость и увеличивают влагоудерживающую способность сгустка. Guinee et al. объясняют это существованием двух типов синерезиса в кислотных сгустках: синерезис, протекающий под действием внешних напряжений – будет тем интенсивнее, чем нежнее сгусток, так как в нежном сгустке легче разрушить связи, участвующие в формировании казеинового каркаса; синерезис спонтанный под действием внутренних напряжений – будет ниже в нежных сгустках, так как в них ниже величина внутренних напряжений и они имеют меньшие размеры пор [402].

Возможно также, что сывороточные белки, денатурированные в результате тепловой обработки или внесенные в молоко в виде различных белковых концентратов, играют разную роль в формировании структуры кислотных сгустков. Сывороточные белки второго рода могут механиче-

ски захватываться сгустком и забивать поры для выхода сыворотки подобно жировым шарикам. Чем выше будет содержание казеина, тем большая часть сывороточных белков этого рода будет захвачена сгустком. Это снизит склонность к синерезису грубого, излишне прочного сгустка, несмотря на большие размеры его пор и более высокое внутреннее напряжение, обусловленное большей плотностью и крепостью связей. Белки первого рода могут принимать непосредственное участие в формировании белкового каркаса и снижать пористость и скорость спонтанного синерезиса сгустка при некотором повышении степени синерезиса под действием внешних напряжений. Таким образом, при обогащении молока казеином и сывороточными белками склонность к синерезису грубых сгустков с относительно высокой прочностью будет снижаться. При низком содержании казеина дополнительно внесенные в молоко сывороточные белки просто не будут захвачены сгустком и уйдут с сывороткой. Без внесения сывороточных белков в молоко грубые сгустки более подвержены спонтанному синерезису, чем нежные, имеющие меньшие размеры пор и более низкие внутренние напряжения. Последнее подтвержено работами Roefs (1986), который прочность сгустков изменял варьированием температуры свертывания [402].

Спонтанный синерезис сгустков снижается при повышении температуры пастеризации, гомогенизации и замедлении свертывания. Повышение давления гомогенизации до 150 атм увеличивает эффективную вязкость кислотного сгустка и уменьшает выделение сыворотки [1251]. Дальнейшее увеличение давления гомогенизации до 300 атм оказывает противоположное действие. Снижение pH во время обработки сгустка усиливает синерезис, по сравнению с синерезисом сгустка с тем же уровнем pH, но достигнутым до начала обработки сгустка.

Синерезис кислотных сгустков в сильной степени зависит от состава микрофлоры заквасок. Это объясняется различной протеолитической активностью микрофлоры заквасок, что оказывает влияние на структуру и прочность казеинового каркаса сгустка, а также образованием отдельными штаммами и видами лактобактерий полисахаридов с высокой водосвязывающей способностью. Сгустки, образованные с участием ацидофильной палочки, всегда обладают более низкой способностью к синерезису.

2.8. Производство сыров с термокислотным осаждением белков

Активная кислотность, при которой происходит коагуляция белков молока, снижается (pH повышается) при увеличении температуры. Это используют в производстве сыров термокислотным способом. Принципиальными отличиями этой технологии от технологии производства кисломолочных сыров является быстрое повышение кислотности молока и высокая температура коагуляции, в результате чего белки не образуют гель, а осаждаются. В эту группу из отечественных сыров входит Адыгейский сыр, из зарубежных – Рикотта.

Технология производства Адыгейского сыра заключается в следующем [1539]. Молоко с кислотностью не выше 20° Т нагревают в пластинчатых или трубчатых пастеризаторах до 93–95° С и направляют в сырные ванны. Затем при непрерывном, но осторожном перемешивании в него вносят пастеризованную сыворотку с кислотностью 85–150° Т в количестве 8–10% от объема молока. Количество вносимой сыворотки зависит от ее кислотности. Сыворотку вносят путем разбрызгивания или осторожно вливают по стенкам ванны. После образования хлопьевидного сгустка, всплывающего на поверхность, его оставляют в покое на 5 мин при температуре не ниже 93° С. Выделяющаяся в результате коагуляции белков молока сыворотка должна быть светлой, иметь желтовато-зеленый цвет и кислотность 30–33° Т.

После 5 мин отстоя всплывшую сырную массу выкладывают перфорированными ковшами с длинной ручкой в формы, выложенные серпянкой и размещенные на сточных передвижных столах, или в плетенные ивовые конусообразные корзинки. Продолжительность самопрессования сырной массы в формах 20–30 мин с одним переворачиванием при 18–22° С. Солят сыр сухой мелкокристаллической солью, нанесением 15–20 г ее сначала на одну поверхность, потом, после усвоения соли, сыр переворачивают и такое же количество соли наносят на другую поверхность. После посолки сыры помещают в камеры с температурой 8–10° С на 16–18 ч, после чего они поступают в реализацию. Срок реализации – не более 3 суток при температуре не выше 8° С.

Сыр Рикотта традиционно вырабатывается в Италии из сыворотки овечьего или коровьего молока. В последние годы он приобрел широкую популярность в Северной Америке, где его вырабатывают из цельного или подснятого молока по следующей технологии [402]. Молоко подкисляют до pH 5,9–6,0 пищевыми кислотами (уксусной, лимонной, молочной), или внесением примерно 20% закваски молочнокислых бактерий, или добавлением ~ 25% сыворотки. Подкисленное молоко нагревают до ~ 80° С прямой инжекцией пара, вызывая этим коагуляцию казеина и сывороточных белков с образованием хлопьев после 30 мин нагрева. После образования хлопьев нагрев прекращают и хлопья в состоянии покоя коалесцируют с образованием на поверхности сгустка. Подогревая смесь подачей пара давлением 1–3 бара в рубашку, ее приводят в круговое движение мешалкой, вращающейся около стенок ванны, в результате чего сгусток концентрируется в центре ванны, откуда его вычерпывают перфорированными ковшами и помещают в перфорированные формы. Самопрессование сгустка проводят в течение 4–6 ч при температуре ниже 8° С.

В результате такой обработки из сыворотки извлекают не все белки. Для полного их использования сыворотку, получаемую при выработке сыра Рикотта по вышеописанной технологии, подкисляют лимонной кислотой до pH 5,4, нагревают до 80° С и дальше обрабатывают по технологии сыра Рикотта, получая сыр под названием Рикоттон. Этот сыр имеет излишне твердую, грубую консистенцию и обычно используется в смеси с нежным сыром Рикотта.

В опытах Смирновой и Брагинского установлено, что максимальное использование сухих веществ сыворотки при выработке сыра термокислотным способом достигается при температуре пастеризации 90–95° С [1664].

2.9. Заключение

В основе производства сыров лежит биологический способ концентрирования основных компонентов молока (белков и жира). В производстве сычужных сыров начальным этапом концентрирования молока является его коагуляция под действием сычужного энзима или энзимов, обладающих подобным сычужному действием на казеин. Под действием молокосвертывающих энзимов от $\varkappa$-казеина отщепляется макропептид, обеспечивающий электростатическую и пространственную устойчивость мицелл казеина. Потерявшие устойчивость мицеллы при наличии в системе ионов Са и температуре выше 15° С начинают связываться друг с другом с образованием геля – трехмерной ячеистой структуры. Поверхность ячеек состоит из агрегатов мицелл, потерявших макропептид (параказеиновых мицелл), внутри них содержатся липиды и вода с растворенными веществами (сыворотка). Любой гель стремится уменьшить свой объем за счет выделения жидкой фазы (молочный гель – за счет удаления части сыворотки). Для ускорения выделения сыворотки из сычужных сгустков их разрезают и вымешивают при умеренных температурах. В результате обработки сгустка получают белково-жировой концентрат молока – основу будущего сыра.

При кислотном свертывании молока устойчивость мицелл казеина теряется в результате медленного повышения кислотности молока до достижения изоэлектрической точки казеина, при которой поверхностный заряд мицеллы равен нулю. Получающийся в результате агрегации мицелл казеина в изоэлектрической точке гель также в процессе обработки теряет часть сыворотки (значительно меньшую, чем сычужный сгусток). Казеины в параказеиновых мицеллах удерживаются главным образом с помощью коллоидного фосфата кальция, которого нет в мицеллах кислотного сгустка.

Осаждение белков молока путем быстрого увеличения кислотности при высоких температурах применяют в производстве сыров термокислотным способом. Концентрация белков и жира молока при сычужном свертывании происходит в наиболее мягких условиях, что благоприятно условия для последующей энзиматической трансформации компонентов молока во вкусовые и ароматические компоненты сыра.

ГЛАВА 3

МИКРОФЛОРА, ПРИМЕНЯЕМАЯ В ПРОИЗВОДСТВЕ СЫРОВ, СОЗРЕВАЮЩИХ В АНАЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ

3.1. Общая характеристика

Сыроделие представляет сопряженный процесс концентрирования и биотрансформации основных компонентов молока во вкусовые и ароматические соединения сыра. В главе 2 показано, что микрофлора не принимает прямого участия в концентрировании молока в производстве сычужных сыров. Ее роль в этом процессе сводится к снижению pH молока во время выработки, что ускоряет синерезис сгустка. В производстве кисломолочных сыров роль микрофлоры неизмеримо выше, так как в этом случае образуемая молочнокислыми бактериями кислота является главным фактором свертывания молока, хотя существуют технологии, основанные на прямом внесении органических кислот или химических ацидогенов в молоко для его свертывания.

Во втором процессе – биотрансформации компонентов молока в соединения, обусловливающие формирование специфических органолептических показателей сыра, – микрофлора играет решающую роль. В предлагаемой классификации сыров (гл. 1) характер микрофлоры, участвующей в их производстве, включен в основные критерии для их разделения на классы и подклассы.

Микрофлору сыра можно разделить на две группы: *необходимую* для его выработки и *посторонюю*, попадающую в сыр вопреки желанию сыродела вследствие недостатков современных способов производства сыра.

Необходимая микрофлора специфична для каждого класса сыров. Так, например, пропионовокислые бактерии необходимы для производства твердых сыров с высокой и средней температурой II нагревания, а их размножение в твердых сырах с низкой температурой II нагревания приводит к появлению нехарактерного вкуса и излишне развитого рисунка. Более того, для выработки сыра с характерными органолептическими показателями необходимая микрофлора должна включать не только представителей определенных таксономических групп микроорганизмов, но и определенные виды и даже штаммы микроорганизмов. Чем лучше мы познаем сыр, тем более строгие требования предъявляются к составу и свойствам необходимой микрофлоры. Необходимую микрофлору при современных условиях производства чаще всего вносят в сыр в виде тщательно отобранных чистых культур или сообществ микроорганизмов.

Основными источниками *посторонней микрофлоры* в сырах являются молоко, а также оборудование, инвентарь, воздух, персонал сыродель-

ных заводов, поскольку промышленную выработку и созревание сыра проводят не в асептических условиях. Постороннюю микрофлору по ее роли в сыроделии можно разделить на *технически вредную*, размножение которой вызывает пороки в сыре, *патогенную* и *условно патогенную*, способную вызвать пищевые заболевания, что не всегда сопровождается ухудшением органолептических свойств сыра. Есть еще одна группа посторонней микрофлоры, к которой относятся микроорганизмы, не способные размножаться в сыре или размножающиеся очень медленно. На качество сыра они не оказывают влияния. Следует также сказать, что далеко не все известно о роли микроорганизмов в сыре, поэтому принадлежность микроорганизмов к той или иной группе со временем может измениться.

В данной главе приведена характеристика микроорганизмов, главным образом тех их свойств, которые играют важную роль в сыроделии.

3.2. Молочнокислые бактерии

3.2.1. Общие свойства

Молочнокислые бактерии по основанной на филогенетических принципах классификации принадлежат к отряду грамположительных микроорганизмов, подотряду *Clostridium-Bacillus*, у которых G+C ДНК меньше 50 мол. % [1005]. Генетически родственными являются *молочнокислые палочки*, *лейконостоки* и *педиококки*, которые в филогенетической системе классификации объединяются в один род, хотя морфологически они делятся на три рода. Род *Streptococcus* четко очерчен морфологически, а филогенетически он должен быть разбит на три рода: *Streptococcus*, *Lactococcus* и *Enterococcus*. Попытки создать систему классификации, учитывающую как филогенетические, так и фенотипические принципы, пока не привели к окончательному результату, поэтому представленную ниже классификацию молочнокислых бактерий нельзя рассматривать как законченную систему: это практическое средство для идентификации наиболее важных для сыроделия молочнокислых бактерий.

К молочнокислым бактериям относятся микроорганизмы, не образующие спор, не использующие O_2 для получения энергии, но способные жить в его присутствии, т. е. *аэротолерантные бактерии*, не образующие каталазу. Обычно анаэробные бактерии, живущие в присутствии воздуха, продуцируют каталазу для разрушения образующейся в аэробных условиях перекиси водорода, являющейся ядом для живых организмов. У молочнокислых бактерий нет каталазы, но есть другие системы, в частности дисмутаза, Mn-содержащие системы, детоксицирующие перекись водорода и другие токсичные радикалы кислорода, образующиеся в аэробных условиях [29]. Если какая-нибудь анаэробная бактерия растет в аэробных условиях, но не образует каталазу, она вероятнее всего относиться к молочнокислым бактериям [1762]. Японские исследователи считают, что благодаря способности детоксицировать образующиеся в аэробных условиях токсичные радикалы кислорода,

молочнокислые бактерии могут быть полезны в профилактике раковых заболеваний. Большинство молочнокислых бактерий неподвижны.

Молочнокислые бактерии получают энергию за счет сбраживания углеводов с образованием в качестве основного продукта брожения молочной кислоты. Гомоферментативные при оптимальных температурах и значениях pH в средах с содержанием не менее 2% глюкозы сбраживают глюкозу с образованием от 85 до 95% молочной кислоты; гетероферментативные – 50–65% сброженной глюкозы переводят в молочную кислоту, остальная глюкоза трансформируется ими в уксусную кислоту, этанол, глицерол, маннитол, CO_2 [1021, 1450, 1552]. Продукты брожения отражают глубокие различия в генетике и биохимии микроорганизмов.

Большинство молочнокислых бактерий активно сбраживают лактозу. Способность получать энергию для своих нужд из лактозы с образованием молочной кислоты имеет большое значение с точки зрения использования молочнокислых бактерий в молочной промышленности по следующим причинам:

- калорийность молочных продуктов, сквашенных молочнокислыми бактериями, уменьшается по сравнению с калорийностью исходного молока только на несколько процентов;
- продукты молочнокислого брожения имеют хорошие органолептические показатели, хорошо усваиваются организмом и пользуются широким спросом;
- образующаяся в процессе молочнокислого брожения кислота подавляет или в значительной степени ингибирует рост технически вредной и патогенной микрофлоры как в продукте, так и в организме, что обеспечивает высокие стойкость и диетическую ценность кисломолочных продуктов;
- для получения достаточного количества энергии для своих нужд молочнокислые бактерии должны сбродить огромное количество субстрата, что обусловливает высокую скорость технологических процессов, основанных на сбраживании лактозы молочнокислыми бактериями.

В природе лактоза встречается практически только в молоке. Адаптация молочнокислых бактерий к лактозе могла произойти только в кишечнике или после одомашнивания животных и начала использования человеком молока для своих целей, что привело к нахождению молока в течение определенного времени вне кишечника и вне молочной железы. Молочнокислые бактерии, используемые в сыроделии, филогенетически не являются близкими родственниками молочнокислым бактериям, постоянно проживающим в кишечнике [227]. Поэтому можно предположить, что наиболее важные для сыроделия молочнокислые бактерии адаптировались к лактозе сравнительно недавно, хотя появились они 1,5–2,0 миллиарда лет назад в период смены на Земле анаэробных условий на аэробные. Одной из основных экологических ниш для них стало молоко и объекты внешней среды, контактирующие с молоком: молоч-

ное оборудование и инвентарь, внешняя среда на молочных фермах и молокоперерабатывающих предприятиях. Вторым источником молочнокислых бактерий является кишечник млекопитающих, третьим – силос и другие ферментированные корма. Показательно, что выделяемые из ризосферы и поверхности растений лактококки часто совсем не растут или медленно растут в молоке [350, 1504]. Способность сбраживать лактозу у многих молочнокислых бактерий закодирована не на хромосомах, а на плазмидах, которые могут быть утрачены клетками.

Адаптация молочнокислых бактерий к молоку сопровождалась потерей ими способности синтезировать многие жизненно важные вещества, поскольку они их получают из молока в готовом виде. Поэтому питательные потребности молочнокислых бактерий очень сложны.

3.2.2. Классификация

На рис. 3.1 и 3.2 приведены практические схемы классификации наиболее важных для сыроделия молочнокислых бактерий, к которым, согласно Берджи (1997) [1552], относятся роды: *Lactobacillus, Streptococcus* (*Lactococcus*), *Leuconostoc* и *Pediococcus*, а также *Enterococcus* – молочнокислые стрептококки кишечного происхождения, филогенетически более дальние родственники представителей первых четырех родов, но играющие определенную роль в сыроделии [227, 1005, 1450, 1552]. В определителе Берги (1986) род *Streptococcus* из важных для сыроделия микроорганизмов включает три подвида *Str. lactis*, получивших в современной системе классификации название лактококков, и *Streptococcus thermophilus*, филогенетически не родственный лактококкам.

3.2.3. Функции молочнокислых бактерий в сыроделии

Молочнокислые бактерии являются основной частью необходимой микрофлоры любого вида сыра, кроме сыров, вырабатываемых термокислотным способом. В сыроделии они выполняют следующие функции:

- совместно с молокосвертывающими энзимами и другими группами необходимой микрофлоры осуществляют биотрансформацию компонентов молока в соединения, формирующие органолептические показатели сыра;
- создают условия, подавляющие или ингибирующие рост технически вредной и патогенной микрофлоры;
- ускоряют синерезис молочных сгустков во время выработки сыров, повышая активную кислотность сырной массы и сыворотки.

Метаболизм лактозы

В сычужных сырах вся лактоза должна быть сброжена с образованием преимущественно молочной кислоты, которая создает основной вкусовой фон продукта; в свежих кисломолочных сырах сбраживается большая часть лактозы. В результате сбраживания лактозы в сырах образуется молочная и немного других органических кислот, которые придают им характерный кисловатый вкус, накапливаются внеклеточные экзоэнзимы

и биомасса молочнокислых бактерий – источник внутриклеточных эндоэнзимов, катализирующих реакции образования вкусовых и ароматических веществ, создаются неблагоприятные условия для размножения посторонней микрофлоры. Побочные продукты ферментации лактозы служат предшественниками образования вкусовых и ароматических веществ сыра, участвуют в образовании рисунка и сами, например, диацетил, входят во вкусовой букет сыра. Сбраживание лактозы молочнокислыми бактериями – основополагающий процесс в производстве сыров.

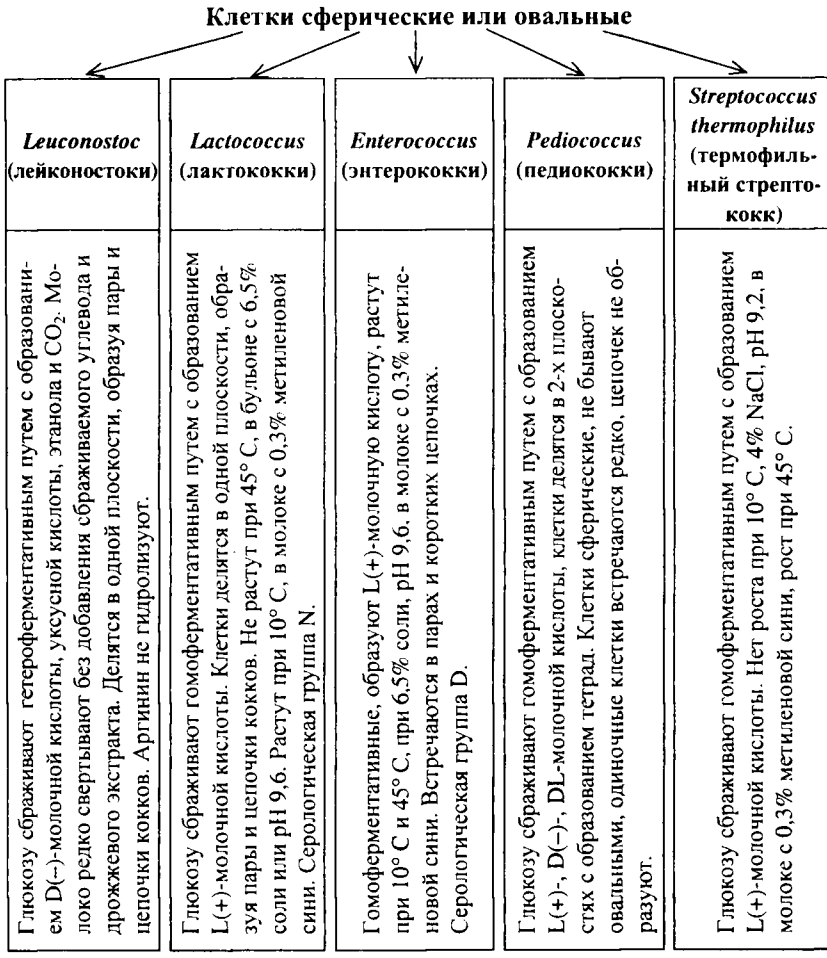


Рис. 3.1. *Классификация наиболее важных для сыроделия кокковых форм молочнокислых бактерий* [227, 1073, 1446, 1450, 1552]

Клетки палочкообразные, семейство Lactobacillaceae

Гомоферментативные: до 95% сброженной глюкозы переводят в молочную кислоту. Не образует CO_2 из глюкозы		Гетероферментативные: в молочную кислоту переводят до 50% сброженной глюкозы, остальную – в CO_2, этанол, уксусную кислоту	
Мезофильные	**Термофильные**	**Мезофильные**	**Термофильные**
Вариабельный рост при 45° С, всегда растут при 15° С. Образуют молочную кислоту	Растут при 45° С и выше, обычно нет роста при < 20° С, никогда не растут при < 15° С. Образуют молочную кислоту	Рост при 15° С, отсутствие роста при 45° С. Образуют молочную кислоту DL-формы	Рост при 45° С, нет роста при 15° С. Образуют DL-молочную кислоту
L(+) *Lbc. casei subsp. casei, ramnosus, tolerans*	D(–) *Lbc. delbrueckii subsp. bulgaricus, lactis*	*Lbc. brevis*	*Lbc. fermentum*
DL *Lbc. plantarum*	DL *Lbc. acidophilus Lbc. helveticus*		

Рис. 3.2. *Схема классификации молочнокислых палочек, применяемых в сыроделии* [227, 955]

Лактоза – дисахарид, состоящий из глюкозы и галактозы. Пути ферментации лактозы молочнокислыми бактериями, по Cogan & Daly, показаны на рис. 3.3 [180].

У лактококков лактоза транспортируется через клеточную мембрану с помощью фосфоенолпируват (PEP)-зависимой фосфотрансферазной системы (PEP/PTS-система), в которой PEP является поставщиком фосфатов и обеспечивает энергией процесс переноса [180, 628]. Лактоза в процессе переноса в клетку фосфорилируется. В клетках фосфорилированная лактоза сразу же гидролизуется до глюкозо-6-P и галактозо-6-P при участии внутриклеточного энзима P-β-галактозидазы (P-β-гал) [627]. Далее глюкозо-6-P сбраживается до лактатов гликолитическим путем. Галактозо-6-P, образующийся в результате гидролиза лактозы, сбраживается в клетках лактококков D-тагатозо-6-P путем, который соединяется с

гликолитическим путем на уровне триозо-фосфатов, так что конечным продуктом ферментации галактозы, как и глюкозы, является молочная кислота. Таким образом, ни глюкоза, ни галактоза в средах (молоке, сыре) не появляются: в среду клеткой выделяется только молочная кислота и минорные продукты ферментации лактозы. Сбраживание глюкозы и лактозы с образованием в качестве конечных продуктов почти исключительно молочной кислоты называется *гликолизом* или гомоферментативным молочнокислым брожением. Ключевыми энзимами гликолиза являются *пируваткиназа* (ПК) и *лактатдегидрогеназа* (ЛДГ). ПК и ЛДГ активируются фруктозо-1,6-диР (ФДР) и ингибируются неорганическим Р (Pi).

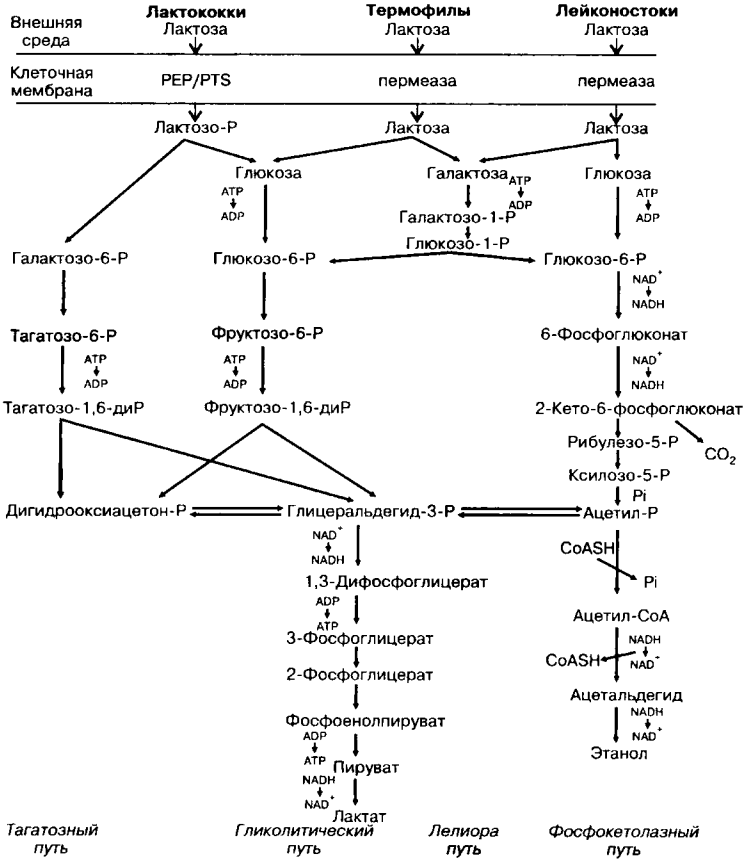


Рис. 3.3. *Метаболизм лактозы в молочнокислых бактериях* [180]

В процессе брожения пируваты могут трансформироваться в другие, чем молочная кислота, продукты брожения: *формиаты*, *ацетаты*, *эта-*

нол, ацетоин. Энзимы, катализирующие реакции образования этих соединений, активируются триозо-фосфатами – промежуточными продуктами гликолиза. Активно размножающиеся клетки лактококков содержат много ЛДГ и ее активатора ФДР, но мало Pi и триозо-фосфатов, что обеспечивает трансформацию основного количества пируватов в лактаты. В голодающих клетках лактококков, что бывает при низком содержании в среде доступных источников энергии, неблагоприятных условиях для роста, резко снижается содержание ФДР, ЛДГ и увеличивается содержание триозо-фосфатов и Pi, и пируваты начинают трансформироваться не только в лактаты, но и в формиат, ацетат и этанол, доля которых в конечных продуктах брожения резко возрастает [1089].

У термофильных молочнокислых бактерий и лейконостоков имеется *пермеазная система* для транспортировки лактозы внутрь клетки, требующая эндогенного источника энергии [180]. Перенесенная этой системой внутрь клетки лактоза гидролизируется β-галактозидазой (β-гал) до глюкозы и галактозы.

Термофильный стрептококк, по данным Hemme et al. (1980), образует одинаковые количества P-β-гал и β-гал, а следовательно, может транспортировать лактозу PEP/PTS и пермеазной системами [180]. По Tinson et al., активность β-гал в клетках термофильного стрептококка в 3000 раз выше, чем активность P-β-гал, а значит, лактоза транспортируется в клетки термофильного стрептококка преимущественно пермеазной системой [180, 1097]. По другим данным, термофильный стрептококк вообще не образует P-β-гал и энзимов D-тагатозо-6-P пути, но образует большие количества β-гал [305, 1087]. Разноречивость этих данных, по-видимому, обусловлена индивидуальными свойствами изученных различными авторами штаммов. Скорее всего, большинство штаммов термофильного стрептококка переносят лактозу в клетки с помощью пермеазной системы и гидролизуют лактозу в клетках β-галактозидазой.

У термофильных лактобацилл (болгарской и молочной палочек и *Lbc. helveticus*) обнаружена β-гал и не обнаружена P-β-гал [434]. Все они переносят лактозу в клетки пермеазной системой. Лейконостоки также, по-видимому, транспортируют лактозу при помощи пермеазной системы, поскольку они не обладают гликолитической системой, сопряженной с PEP/PTS системой. У болгарской палочки и *Lbc. helveticus* есть PEP/PTS система только для переноса глюкозы [434].

Lawrence & Thomas (1979) предполагают, что PEP/PTS система обеспечивает быстрое, пермеазная – медленное сбраживание лактозы [627]. Это подтверждается тем, что штаммы лактококков, выделенные из заквасок и обладающие высокой скоростью сбраживания лактозы, образуют большое количество P-β-гал, но мало β-гал, а «дикие» штаммы с низкой активностью по отношению к лактозе образуют много β-гал и мало P-β-гал [305].

У термофильного стрептококка и термофильных гомоферментативных лактобацилл, лактоза, перенесенная в клетку пермеазной системой, гидролизуется β-галактозидазой (β-гал) на глюкозу и галактозу, глюкоза

сбраживается до молочной кислоты гликолитическим путем, галактоза может трансформироваться в глюкозо-1-Р путем Лелиора, глюкозо-1-Р гликолитическим путем сбраживается до молочной кислоты. У термофильного стрептококка есть ЛДГ, которая активируется ФДР, но есть штаммы, в которых ФДР не стимулирует активность, а Pi не ингибирует ЛДГ [344, 427]. Первые могут сбраживать глюкозу по гомоферментативному пути, вторые, очевидно, только гетероферментативным путем.

Ключевым энзимом пути Лелиора является галактокиназа. Большинство штаммов термофильного стрептококка образует очень мало этого энзима, что ведет к неспособности их сбраживать галактозу [664, 1087, 1097]. Несброженная галактоза выходит из клетки и накапливается в среде (в сыроделии – в молоке и сыре). Это же происходит в культурах молочной и болгарской палочек, которые не могут сбраживать галактозу; *Lbc. helveticus* галактозу сбраживает [434].

У лейконостоков лактоза переносится в клетки пермеазной системой, гидролизуется β-гал до глюкозы и галактозы, глюкоза далее сбраживается фосфокетолазным путем до молочной кислоты, CO_2 и этанола. Пока нет экспериментальных данных, каким путем лейконостоки сбраживают галактозу, но, скорее всего, она трансформируется путем Лелиора в глюкозо-1-Р, который сбраживается фосфокетолазным путем [180].

Суммарные уравнения сбраживания лактозы гликолитическим (гомоферментативным) путем (3.1) и фосфокетолазным (гетероферментативным) путем (3.2) имеют следующий вид:

$$1\ \text{Лактоза} + 4\ \text{ADP} \longrightarrow 4\ \text{Лактат} + 4\ \text{ATP} \qquad (3.1)$$

$$1\ \text{Лактоза} + 2\ \text{ADP} \longrightarrow 2\ \text{Лактат} + 2\ \text{Этанол} + 2CO_2 + 2\ \text{ATP} \qquad (3.2)$$

Из этих уравнений следует, что гликолитический путь ферментации лактозы энергетически в два раза более выгоден, чем гетероферментативный.

Следует еще раз отметить, что гомо- и гетероферментативные пути характерны для сбраживания глюкозы и лактозы соответствующими микроорганизмами при оптимальных для их жизнедеятельности условиях. Отклонение от этих условий может изменить характер брожения. Так, например, лактококки в средах с галактозой или низким содержанием глюкозы сбраживают сахара с образованием лактатов, формиатов, ацетатов, этанола и ацетоина из пируватов.

Таким образом, при размножении термофильных стрептококка и лактобацилл, неспособных сбраживать галактозу, в сыре накапливается свободная галактоза. Лактококки сбраживают свободную, не входящую в состав лактозы или других углеводов галактозу, но только при отсутствии лактозы и глюкозы в среде [1087]. Следовательно, в сырах лактококки будут сбраживать галактозу только после того, как сброжена вся лактоза.

Thomas et al. показали, что 10 исследованных ими штаммов сливочного лактококка транспортировали галактозу внутрь клетки с помощью PEP/PTS системы, а далее метаболизировали ее по тагатозному

пути [1092]. Поскольку PEP/PTS система имеет низкое сродство к галактозе, рост их на среде с содержанием галактозы меньше 30 мМ (0,54%) был очень медленным. Четыре из пяти штаммов молочного лактококка транспортировали галактозу пермеазной системой. Все изученные штаммы лактококков, за исключением одного, сбраживали галактозу с образованием лактатов, формиатов, ацетатов и этилового спирта, т. е. гетероферментативным путем.

Таким образом, галактоза, образуемая в сыре термофильным стрептококком, молочной и болгарской палочками, при сбраживании лактозы может быть медленно сброжена лактококками после окончания ферментации лактозы по гетероферментативному пути. Альтернативой этому является сбраживание галактозы незаквасочной микрофлорой.

Метаболизм цитратов

В молоке в среднем содержится 0,16% лимонной кислоты, что примерно в 30 раз ниже содержания лактозы. В свежем сыре обнаруживается около 1,5 г/кг цитратов. Продукты метаболизма цитратов молочнокислыми бактериями – диацетил и CO_2 – играют важную роль в сыроделии. Аромат кисломолочных сыров обусловлен, главным образом, диацетилом; диацетил также входит в число ароматообразующих соединений твердых сыров, хотя роль его в твердых сырах ниже, чем в кисломолочных. Углекислый газ, образуемый молочнокислыми бактериями из цитратов и лактозы, формирует рисунок в сырах голландской группы. Образование CO_2 из цитратов может принести и вред сыроделию: вызвать всплывание сгустка при производстве сыра Коттедж и самокол в твердых сырах. В последнем случае ферментация цитратов происходит в конце первой и во второй половине созревания в результате развития бактерий незаквасочного происхождения при условии, если цитраты не были сброжены микрофлорой закваски во время выработки и на первых этапах созревания. Цитраты не являются источниками энергии для молочнокислых бактерий, за исключением энтерококков, поэтому они ферментируются только в присутствии сбраживаемых лактобактериями углеводов.

В мезофильных закваска для производства твердых и кисломолочных сыров цитраты сбраживают диацетильный лактококк и лейконостоки. Из бактерий, редко включаемых в закваски, цитраты сбраживают *Lbc. plantarum, Lbc. casei, Lbc. fermentum* [1203]. В производстве сыров важен не только сам факт сбраживания цитратов, но и этап, во время которого это происходит: при слишком быстром сбраживании цитратов рисунок в мелких сырах типа Костромского будет мелким, неправильным и даже щелевидным; сбраживание цитратов до формования сыра или слишком поздно может привести к отсутствию рисунка или самоколу.

Протеолиз

Молочнокислые бактерии не могут синтезировать целый ряд аминокислот и должны получать их из среды обитания в готовом виде. Лактококки имеют абсолютную потребность не менее чем в шести амино-

кислотах (глутаминовой, валине, метионине, лейцине, изолейцине и гистидине), а некоторые штаммы также нуждаются в фенилаланине, тирозине, лизине и аланине [180, 610]. Лейконостоки имеют абсолютные потребности в валине и глутамине, другие аминокислоты стимулируют рост лейконостоков или необходимы для развития отдельных штаммов. Потребности термофильного стрептококка в аминокислотах схожи с потребностями лактококков; потребности лактобацилл более сложные, и они недостаточно изучены.

Органический азот молочнокислые бактерии могут усваивать в виде свободных аминокислот и низкомолекулярных пептидов, содержащих не более семи аминокислотных остатков с молекулярной массой менее 1500, для переноса которых через мембраны имеются системы, зависимые от pH и нуждающиеся в эндогенных источниках энергии.

В свежем молоке содержится такое количество свободных аминокислот и низкомолекулярных пептидов, которое достаточно для синтеза не более 5–20% биомассы лактококков от уровня, которого она достигает в свернутом ими молоке (0,5 мг/мл сухого веса, или 1,0–1,5 млрд. КОЕ/мл) [180, 610]. Для того чтобы при росте в молоке получить недостающее количество доступного для них органического азота, лактококки должны иметь протеолитические системы, которые также используются ими для биосинтеза собственных белков в клетках.

Для получения источников азота в доступной для них форме лактококки имеют полный набор протеолитических энзимов: от протеиназ до амино-, карбокси- и дипептидаз [180, 610]. На рис. 3.4 приведены взаимоотношения между протеолитическими энзимами молочнокислых бактерий и транспортом аминокислот и пептидов в их клетки [180].

Начальный этап расщепления казеинов происходит при участии протеиназ. Для расщепления белков и крупных пептидов лактококки имеют 4 протеиназы и две пептидазы с узким и широким спектрами действия, локализованные на клеточной стенке или мембране [437, 571, 609, 610]. Протеиназы лактококков – металлоэнзимы, активные в присутствии Ca [180]. Только одна из 4-х протеиназ присутствует у всех штаммов лактококков. Неодинаковый набор протеиназ определяет неодинаковые протеолитические свойства штаммов лактобактерий. Протеиназы непрочно связаны с клеточной стенкой и могут выделяться в среду, вследствие чего лактобактерии могут расщеплять белки вне клетки. Расщепленные ассоциированными с клеточными стенками протеиназами белки в виде свободных аминокислот, ди- и трипептидов, поступают внутрь клетки. Внутри клетки имеется набор энзимов для расщепления пептидов до аминокислот и синтеза собственных белков (дипептидазы, трипептидазы, аминопептидазы, карбоксипептидазы, протеиназы). На пептидазный транспорт оказывает влияние pH среды: чем выше pH, тем ниже эффективность транспорта, например, дипептида лейцин-лейцин [114].

У лактобацилл в расщеплении белков основную роль играют также протеиназы, связанные с клеточными стенками [281, 610], но их количе-

ство меньше, а диапазон действия, возможно, уже, чем у лактококков. Так, у болгарской палочки только одна протеиназа, которая связана с клеточной стенкой и проявляет высокую активность при 45–50° С и pH 5,2–5,8 [32]. Этот диапазон не совпадает с условиями выработки сыров в сырной ванне. Активность протеиназ, связанных с клеточными стенками мезофильных лактобацилл, в большой степени зависит от штамма [281].

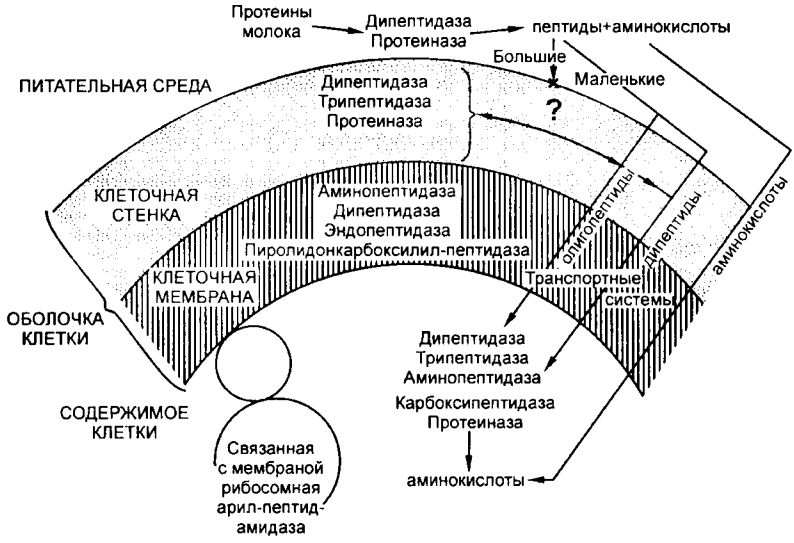


Рис. 3.4. *Взаимоотношения между протеолитическими системами и переносом в клетки аминокислот и пептидов у молочнокислых бактерий* [180]

У лейконостоков протеиназная активность клеточных стенок очень низкая, возможно, у них вообще отсутствуют протеиназы, ассоциированные с клеточной стенкой [687].

Для синтеза собственных протеолитических энзимов лактококкам нужны экзогенные аминокислоты, поэтому они начинают синтез спустя 2–3 генерации после внесения в молоко, когда численность популяции достигнет 8–16% от максимально возможного уровня в молоке при неконтролируемом pH [610, 1519]. Таким образом, *для нормального развития лактококков в молоке должен быть стартовый запас низкомолекулярных аминокислот и низкомолекулярных пептидов.*

Гены, управляющие синтезом протеиназ и пептидаз, локализованных в клеточных стенках, расположены на плазмидах, в то время как синтез внутриклеточных протеолитических энзимов кодируется хромосомной ДНК. В популяции лактококков всегда имеются спонтанные мутанты, которые потеряли плазмиды, кодирующие синтез протеиназ, и

поэтому неспособные к расщеплению протеинов (Prt^- варианты) [1396]. Обработка акрифлавином, выдержка при 39–40° С, голодание клеток приводят к потере клетками плазмид, кодирущих синтез протеиназ, ассоциированных с клеточной стенкой или мембраной, и превращению Prt^+ штаммов в Prt^- варианты, не затрагивающему активность внутриклеточных протеолитических энзимов [825, 1396].

Существуют стабильные в молоке Prt^- штаммы лактококков, что может быть обусловлено наличием в их клетках плазмид, имеющих гомологичные участки и сходный механизм репликации с плазмидами, кодирующими синтез протеиназ, ассоциированных с клеточными стенками и мембранами, что делает невозможным одновременное присутствие этих плазмид в клетках (Воробьева, Лапина, 1988).

Prt^- варианты молочнокислых бактерий плохо растут в молоке, если его не обогатить доступными для лактококков источниками азота. После выращивания в обезжиренном молоке при 22° С в течение 16 ч биомасса Prt^- варианта сливочного лактококка составила 17–21% от биомассы родительского Prt^+ штамма, а время его генерации возросло в 3,5 раза [627]. Обычно, чем выше протеиназная активность лактококков, тем быстрее они растут в молоке, но имеются Prt^- варианты с достаточно высокой скоростью роста в молоке, что можно объяснить быстрым автолизом их клеток с высвобождением внутриклеточных энзимов, среди которых есть протеиназы [627].

Медленно растущие в молоке штаммы и виды молочнокислых бактерий активизируются в присутствии молокосвертывающих энзимов, которые не влияют на скорость развития быстро растущих культур [1304]. Некоторые штаммы термофильного стрептококка расщепляют казеин только в присутствии молокосвертывающих энзимов или природных протеиназ молока [698]. Это свидетельствует о том, что низкая протеиназная активность является одной из причин плохого роста в молоке так называемых «медленных» штаммов.

Протеиназная активность лактококков и лактобацилл в значительной степени зависят от штамма и вида, пептидазная и аминопептидазная – выше у лактобацилл, у которых более активны внутриклеточные пептидазы и аминопептидазы [610]. 80–90% штаммов термофильных лактобацилл, в основном *Lbc. helveticus*, а также болгарской и молочных палочек, *Lbc. fermentum*, выделенные из сывороточных заквасок для производства итальянских крупных сыров, были вообще неактивны по отношению к казеину, при сохранении активности внутриклеточных энзимов [104]. По-видимому, это связано с их адаптацией к подсырной сыворотке, в которой всегда есть продукты расщепления казеина, или с потерей кодирующих синтез протеиназ плазмид во время выдержки сыворотки при достаточно высоких температурах (для предупреждения роста мезофилов), которую проводят перед использованием в качестве закваски. О широкой распространенности в молоке штаммов *Lbc. helveticus* с низкой скоростью кислотообразования и казеолитической активностью свидетельствуют опыты Тер-Казарьяна [1692].

Из 59 штаммов мезофильных лактобацилл (в основном *Lbc. casei* и *Lbc. plantarum*), выделенных из твердых сыров, только один штамм *Lbc. casei* обладал достаточно высокой протеолитической активностью [1705]. Польские ученые также установили более высокую активность ассоциированных с клеточными стенками протеиназ лактококков по сравнению с соответствующими протеиназами *Lbc. casei* [1211]. В совместных культурах протеолитические системы лактококков и лактобацилл дополняют друг друга, что ведет к взаимному стимулированию роста лактококков и лактобацилл. Так, скорость образования свободных аминокислот в совместных культурах *Lbc. casei* и молочного лактококка по сравнению с чистыми культурами возросла почти в два раза, а количество жизнеспособных клеток в период максимума увеличилось примерно в три раза [1564].

Проверка 100 штаммов сливочного лактококка с различными плазмидными профилями, выделенных из двух заквасок, показала, что 20 и 28% из них расщепляли β-казеин, ни один не расщеплял α-казеин [351]; в опытах Exerkate только один штамм сливочного лактококка атаковал α-казеин [437]. Ассоциированные с клеточной стенкой протеиназы лактококков действуют, по данным Geis et al. (1985), только на β-казеин [180]; по другим данным, они могут атаковать и α-казеин, но с меньшей скоростью [1134, 1370]. В сырах они атакуют первичные продукты расщепления α-казеина молокосвертывающими энзимами [1134]. Эндопептидаза диацетильного лактококка действует на α_{s1}-казеин, но не на сывороточные белки [610].

Протеиназы лактобацилл действуют на α-, β-, $\varkappa$-казеины, а также на сывороточные белки [610]. Специфичность лактобацилл по отношению к типу казеина зависит от штамма. В опытах El-Soda & Desmazeaud *Lbc. helveticus* не гидролизовал β-казеин и только частично гидролизовал α_s-казеин, молочная и болгарская палочка гидролизовали оба типа казеина [287]. Выделенные другими авторами из сывороточных заквасок для производства сыра Грана протеолитически активные штаммы *Lbc. helveticus* быстро гидролизовали весь α- и большую часть β-казеинов, а молочная палочка расщепляла только β-казеин; *Lbc. casei*, болгарская палочка и часть штаммов *Lbc. helveticus*, которые утратили плазмиду 3,5 М Да, обладали только слабым действием на казеин [698, 744]. Термофильный стрептококк атакует β- и $\varkappa$-казеины [239].

Протеолиз под действием молочнокислых бактерий играет громадную роль в формировании органолептических показателей твердых сыров. Так, сыр Чеддер, выработанный с Prt^- мутантом сливочного лактококка, имел значительно менее выраженный сырный вкус по сравнению с контрольным сыром, выработанным на обычной промышленной закваске [303, 789].

Липолиз

Липолитическая активность молочнокислых бактерий настолько низкая, что на нее не стоило бы обращать внимание, если бы не важность липолиза в формировании органолептических показателей сыров. В большинстве сыров расщепляется только очень небольшая доля мо-

лочного жира, но продукты липолиза играют ведущую роль в формировании вкуса и аромата сыров, потому что они обладают низким вкусовым порогом. Сыры из обезжиренного молока не приобретают сырного вкуса и аромата, а у низкожирных сыров вкус всегда менее выражен, чем у полножирных [859]. В свете этого важно выяснить участие молочнокислых бактерий в трансформации липидов во вкусовые и ароматические соединения твердых сыров (в производстве мягких сыров принимает участие микрофлора с гораздо более высокой липолитической активностью, чем липолитическая активность лактобактерий, а в кисломолочных сырах липолиз не играет роли).

Липолитическая активность молочнокислых и пропионовокислых бактерий показана в табл. 3.1. Липолитическую активность молочнокислых бактерий в этом опыте оценивали по приросту содержания свободных жирных кислот (СЖК) в цельном стерильном молоке после семидневного культивирования при оптимальной температуре для роста изучаемого штамма: увеличение содержания СЖК на 4% и выше свидетельствовало о высокой, на 2,0–2,5% – о средней и на 1,5% – о низкой липолитической активности штамма. Липолитическую активность пропионовокислых бактерий определяли диффузионным методом, выращивая испытуемую культуру в индикаторной среде следующего состава: 30 г пептона, 20 мл 40 %-ной молочной среды, 10 мл дрожжевого автолизата на 1 л водопроводной воды, 1,2% агара и 1% твина 40 как субстрата, pH среды 7,0. Первоначально изучаемый штамм выращивали анаэробно в течение 3 сут в жидкой среде указанного состава, но без агара и твина, и вносили в лунки на индикаторную среду, посевы выращивали в анаэростате в течение 10 сут, затем выдерживали 3–4 сут при комнатной температуре. О липолитической активности судили по ширине зоны помутнения вокруг лунок, образуемой кристаллами жирных кислот, высвобождаемых при гидролизе твина: 1–3 мм – низкая; 4–7 мм – средняя и более 7 мм – высокая [1710].

3.1. Липолитическая активность молочнокислых и пропионовокислых бактерий [1710]

Вид бактерий	всего	Количество штаммов с активностью:			
		нулевой	слабой	средней	высокой
Lactococcus	37	9 (24%)	21 (57%)	5 (13,5%)	2 (5,4%)
Lc. diacetylactis	14	0	2 (14,3%)	5 (35,7%)	7 (50%)
Str. thermophilus	26	2 (7,7%)	11 (42,3%)	8 (30,8%)	5 (19,2%)
Lbc. helveticus	13	1 (7,7%)	1 (7,7%)	5 (38,5%)	6 (46,2%)
Lbc. lactis	3	0	1(33,3%)	1 (33,3%)	1 (33,3%)
Prb. shermanii	17	1 (5,9%)	1 (5,9%)	4 (23,5%)	11 (64,7%)
Prb. freudenreichii	7	4 (57,1%)	1 (14,3%)	1 (14,3%)	1 (14,3%)
Prb. jensenii	5	5 (100%)	0	0	0
Prb. technicum	3	2 (66,6%)	0	0	1(33,4%)
Prb. pentosaceum	1	1 (100%)	0	0	0

Из молочнокислых бактерий наиболее часто штаммы с высокой липолитической активностью встречались у диацетильного лактококка и швейцарской палочки (*Lbc. helveticus*), из пропионовокислых бактерий максимальной липолитической активностью обладали штаммы *Prb. shermanii*. Высокой липолитической активностью обладают также лейконостоки [947]. Таким образом, молочнокислые и пропионовокислые бактерии обладают определенной липолитической активностью в молоке и питательных средах, которая зависит от их вида и штамма.

Липолитическая активность микрофлоры заквасок проявилась и в сырах. В сырах, выработанных в асептической ванне с применением закваски, содержание СЖК в три раза превышало их содержание в сырах, вырабатываемых без закваски. Низкая удельная липолитическая активность молочнокислых бактерий в определенной степени компенсируется большим их количеством в сырах и длительным контактом с субстратом во время созревания.

Видовые и штаммовые различия молочнокислых и пропионовокислых бактерий позволили создать закваски для производства Советского сыра с высокой и низкой липолитической активностью. В зрелом сыре, выработанном на закваске с высокой липолитической активностью, количество свободных жирных кислот (12,22% от общего количества жирных кислот) было в 1,5 раза выше, чем в сырах с заквасками из штаммов с низкой липолитической активностью; сыры первого варианта имели более выраженный сырный вкус и лучшую консистенцию. Штаммы молочнокислых бактерий с высокой липолитической активностью обладают более высокой кислотообразующей и протеолитической активностью [1220].

Штаммы молочнокислых и пропионовокислых бактерий отличаются не только по скорости гидролиза липидов, но и по спектру высвобождаемых жирных кислот [1236]. Более высокое качество имел Советский сыр, выработанный на заквасках с наиболее высоким отношением ненасыщенных к насыщенным свободным жирным кислотам, высвобождаемым при липолизе.

Бактериальные закваски для сыроделия обладают фосфолипазной активностью, особенно по отношению к фосфатидилэтаноламину и фосфатидилхолину [1712]. Закваски с высокой фосфолипазной активностью, в отличие от заквасок с высокой липолитической активностью, ухудшают качество сыра.

Крайне желательно, чтобы липолиз в сырах, кроме специфических видов, например, вырабатываемых с участием плесневых грибов или экзогенных липаз, проходил под воздействием только молочнокислых бактерий, обладающих низкой липолитической активностью по сравнению с представителями других родов, потому что слишком активный липолиз приводит к появлению разнообразных пороков сыра, и прежде всего прогорклого вкуса. Низкое содержание свободных жирных кислот обусловливает невыраженный сырный вкус.

Более подробно биотрансформация компонентов молока в сыре изложена в гл. 11.

Ингибирование и подавление роста посторонней микрофлоры

Молочнокислые бактерии играют ведущую роль в подавлении или ингибировании роста технически вредной и патогенной микрофлоры. Антибактериальные факторы молочнокислых бактерий можно разделить на две группы: неспецифические и специфические, перечень их приведен в табл. 3.2.

3.2. Антимикробиальные факторы молочнокислых бактерий [397]

Ингибирующие факторы	Спектр активности в сырах
1. Неспецифические	
1.1. Органические кислоты, pH	Большинство вредных бактерий
1.2. Создание анаэробных условий	Облигатные аэробы и факультативные анаэробы
1.3. Конкуренция за лактозу	Сахаролитические бактерии
2. Специфические	
2.1. Бактериоцины	Лактококки, лактобациллы, энтеробактерии, стафилококки, клостридии, психротрофы и др.
2.2. Низин	Клостридии, стафилококки, споровые анаэробы
2.3. H_2O_2 и другие токсичные радикалы O_2	Клостридии, стафилококки, микрококки, психротрофы

Из неспецифических факторов образование органических кислот, снижение pH и быстрое использование источников энергии, наиболее доступных для большинства вредных для сыроделия микроорганизмов, непосредственно связано со сбраживанием молочнокислыми бактериями лактозы. Большинство вредных для сыроделия бактерий не растет при pH кисломолочных сыров, но растет в питательных средах при значениях pH, характерных для твердых сычужных сыров (5,0–5,5). Однако в сырах pH снижается в результате образования молочнокислыми бактериями молочной и уксусной кислот, а ингибирующее действие органических кислот намного выше, чем неорганических. Молочная кислота, например, ингибирует развитие кишечной палочки при pH 5,1 в такой же степени, как соляная кислота при pH 4,5 [24]. По мнению некоторых авторов, происходит это потому, что органические кислоты, в отличие от неорганических, проникают внутрь бактериальной клетки, вызывая необратимые изменения цитоплазмы [912]. Кроме того, минимальные значения pH для роста микроорганизмов определяют при прочих оптимальных условиях, а в сырах и другие факторы, особенно содержание O_2 и температура, далеки от оптимальных значений для роста большинства представителей патогенных и технически вредных микроорганизмов.

Лактококки и лактобациллы быстро связывают большую часть растворенного в молоке и водной фазе сыра кислорода, снижая редокспотенциал в сыре до – (140–150) мВ, тем самым делают невозможным рост в сырной массе облигатных аэробов и сильно ограничивают рост

факультативных анаэробов [363, 1015, 1576]. Сочетание анаэробных условий и отсутствия углеводов подавляет рост многих факультативных анаэробов, которые в отсутствие кислорода обладают абсолютной потребностью в углеводах.

Специфический антагонизм молочнокислых бактерий по отношению к технически вредной микрофлоре сыра очень важен в тех случаях, когда совокупность неспецифических антагонистических факторов недостаточна для подавления ее развития в сырах. Конкретным примером являются маслянокислые бактерии, которые не нуждаются для роста в сыре ни в лактозе (они получают энергию в сырах за счет сбраживания лактатов), ни в кислороде и сравнительно устойчивы к pH. Широкое промышленное применение в сыроделии нашли молочнокислые палочки, образующие достаточное количество перекиси водорода для ингибирования роста в сырах маслянокислых бактерий без угнетения роста лактококков [1295]. Если степень неспецифического антагонизма определяется в основном видовой принадлежностью молочнокислых бактерий, то специфический антагонизм зависит главным образом от индивидуальных особенностей штаммов. Как правило, штаммы с низкой скоростью кислотообразования обладают более выраженным специфическим антагонизмом.

3.2.4. Лактококки

Лактококки (по старой номенклатуре мезофильные молочнокислые стрептококки) являются основными представителями необходимой микрофлоры для большинства сыров за исключением твердых сыров с высокими и средними температурами II нагревания. Опыты по выработке сыров из асептически полученного молока в асептических ваннах, предохраняющих сыр во время выработки от загрязнения посторонней микрофлорой, показали, что *лактококки являются необходимой и достаточной микрофлорой для производства сыров с низкими температурами II нагревания* [331, 561, 1743]. Они являются единственной микрофлорой, участвующей в производстве большинства кисломолочных сыров.

В 9-ом издании определителя бактерий Берджи род *Lactococcus* входит в группу 17 «Грамположительные кокки». Дифференциальные признаки рода: факультативные анаэробы, метаболизм бродильного типа, сбраживают углеводы с образованием в основном L(+)-молочной кислоты без выделения газа, растут при 10° С, не растут при 45° С и в присутствии 6,5% NaCl [1552]. Лактококки являются мезофильными гомоферментативными бактериями. Типовой вид *Lactococcus lactis* имеет три подвида: *Lactococcus lactis subsp. lactis*; *Lactococcus lactis subsp. cremoris* и *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis* (для краткости будем их называть молочный, сливочный и диацетильный лактококки, либо *Lc. lactis*, *Lc. cremoris* и *Lc. diacetylactis*). В 9-ом издании определителя бактерий Берджи приведен *Lactococcus lactis subsp. hordinae*, не сбраживающий лактозу, о роли которого в сыроделии ничего неизвестно, но исключен *Lc. lactis subsp. diacetylactis*, имеющий исключительно важное

значение в производстве сыра. Исключение диацетильного лактококка из классификации следует рассматривать как ошибку. Кроме молочного лактококка с подвидами в группу лактококков включены четыре вида *Lc. garviese*, *Lc. piscium*, *Lc. raffinolactis* и *L. plantarum*. Значение для сыроделия первых трех видов не выявлено, клетки *L. plantarum* обычно имеют форму коротких палочек и этот вид рассматривается в группе лактобацилл.

Лактококки в среде с достаточной концентрацией глюкозы или лактозы при pH 7,0 и 30° С в анаэробных условиях образуют из сброженного сахара до 95% молочной кислоты; в средах с ограниченным содержанием сахаров они сбраживают их по гетероферментативному пути, образуя, кроме молочной, уксусную и муравьиную кислоты, этанол [1085, 1089, 1092].

Лактококки – факультативные анаэробы, получают энергию только путем брожения. Большинство микроорганизмов могут получать энергию разными путями, что обеспечивает им возможность существования в различных условиях. Поэтому более правильно говорить не о гомо- или гетероферментативных бактериях, а о том, каким путем они получают энергию. Лактококки в оптимальных условиях получают энергию из глюкозы или лактозы гомоферментативным путем, в неблагоприятных – гетероферметативным путем. В опытах Collins в среде, содержащей 0,18% глюкозы, лактококки сбраживали в уксусную кислоту до 14% сахара [186]. При низкой степени разбавления среды в хемостате, приводящей к дефициту углеводов, лактококки могут трансформировать в молочную кислоту только 1% сброженной глюкозы. Пути сбраживания глюкозы и лактозы лактококками зависят от температуры: при 30–37° С глюкоза сбраживается по гомоферментативному, при 15–20° С – по гетероферментативному пути [483]. Таким образом, во время созревания сыров лактоза сбраживается по гетероферментативному пути, что объясняет постоянное наличие уксусной кислоты в твердых сычужных сырах. По гетероферментативному пути большинство штаммов лактококков сбраживает галактозу, мальтозу, рибозу, глюконат [1034, 1092].

Диагностические характеристики лактококков приведены в табл. 3.3. Филогенетически все три подвида близко родственны и образуют четко очерченный таксон [227]. Однако между подвидами четкого разделения не существует. Из заквасок и ферментированных молочных продуктов часто выделяют штаммы лактококков с промежуточными свойствами [346, 498, 1055, 1308, 1354, 1431, 1493]. Это происходит потому, что такие свойства лактококков, как способность ферментировать лактозу, цитраты, сахарозу, галактозу, протеиназная активность, способность синтезировать антибиотик низин и, возможно, гидролизовать аргинин, закодированы на плазмидной ДНК, репликация которой происходит независимо от репликации хромосомной ДНК [227]. При потере клеткой плазмиды дочерние клетки не получают ее копии и теряют способность выполнять ту функцию, которая была закодирована на данной плазмиде. Лактококки, выделенные из сырого молока, по способности сбраживать различные источники углерода можно разделить на 15, 35 и 13 физиологических групп соответственно *Lc. lactis subsp. cremoris*, *Lc. lactis subsp. lactis* и *Lc. lactis*

subsp. diacetylactis [163]. Встречаются штаммы молочного лактококка, неспособные гидролизовать аргинин. Потеря этого свойства часто сопровождается приобретением способности утилизировать цитраты. Из заквасок выделяли штаммы сливочного лактококка (по старой номенклатуре *Str. cremoris*), которые росли в бульоне с 4% NaCl, сбраживали мальтозу и декстрин, образовывали небольшие количества диацетила. Некоторые авторы считают, что лактококки образуют фенотипически и генотипически непрерывный спектр с концентрацией около трех точек, которые условно назвали подвидами *lactis*, *diacetylactis* и *cremoris*. Показательно, что около 30% бактериофагов, выделенных на сыродельных заводах, способны лизировать штаммы всех трех подвидов лактококков [1308, 1354].

3.3. *Дифференциальные характеристики лактококков и Streptococcus thermophilus* [106, 227, 1311, 1450, 1552]

Показатели	*L. lactis subsp.*			*Str. thermophilus*
	lactis	*diacetylactis*	*cremoris*	
Рост при				
10° С	+	+	+	–
16° С	+	+	+	–
40° С	+	+	м	+
45° С	–	–	–	+
pH 9, 2	+	+	–	–
с 4% NaCl	+	+	–	–
с 0,1% метиленовой сини в молоке	+	+	–	–
с 40% желчи в среде	+	+	+	–
Гидролиз аргинина с образованием NH_4	+	+	–	м
CO_2 из цитратов	–	+	–	–
Образование диацетила и ацетоина	–	+	–	–
Кислота из: галактозы	+	+	+	±
ксилозы	+	–	–	–
мальтозы	+	+	–	м
инулина	–	+	–	–
сахарозы	–	–	–	м
трегалозы	+	м	(м)	
раффинозы	–	–	(м)	–
рибозы	+	+	–	–
декстрина	+	+	–	–
G+C в ДНК, мол. %	34–37	33–35	35–36	40

Примечания: + = у 90 и более % штаммов положительная реакция;
– = у 90 и более % штаммов отрицательная реакция;
м = у 11–89% штаммов слабая положительная реакция;
(м) = слабая, замедленная реакция.

Главным отличием *Lc. lactis subsp. diacetylactis* от двух других подвидов является его способность утилизировать цитраты с образованием CO_2, диацетила и ацетоина. Это отличие имеет принципиальное значение, так как образуемый этим подвидом CO_2 обусловливает формирование рисунка в наиболее распространенных твердых сырах, а рисунок является важным и легко распознаваемым потребителем показателем качества продукта. Диацетил (но не ацетоин) принимает участие в формировании аромата сыров [179]. Благодаря образованию диацетила диацетильный лактококк и лейконостоки часто называют ароматообразующими, а два других вида – кислотообразующими микроорганизмами. Это справедливо для кислосливочного масла, аромат которого зависит в первую очередь от содержания в нем диацетила, в сырах же роль диацетила значительно скромнее. В производстве Чеддера, например, ароматообразующие молочнокислые бактерии не применяют, потому что образование ими CO_2 приводит к появлению «открытой» структуры (появлению трещин в сырной массе), которая считается большим пороком этого сыра. Диацетил в Чеддере часто вообще не обнаруживается после первых двух недель созревания [180, 405]. Несмотря на это, Чеддер обладает хорошо выраженными ароматом и сырным вкусом. В то же время активные по кислотообразующей способности штаммы диацетильного лактококка вносят в образование кислоты при производстве сыров такой же вклад, какой вносят два других подвида лактококков. Диацетильный лактококк и лейконостоки лучше называть не ароматообразующей, а газообразующей микрофлорой заквасок.

В процессе культивирования, особенно на молочных средах, диацетильный лактококк может потерять способность синтезировать цитрат пермеазу, осуществляющую транспорт цитратов через клеточную мембрану, и тем самым перестать утилизировать цитраты [537, 628]. Однако и в этом случае у него обнаруживается цитратаза, отсутствующая у молочного лактококка [185]. Нестабильность способности диацетильного лактококка утилизировать цитраты обусловлена тем, что она закодирована на плазмидах [1073].

Несмотря на способность образовывать CO_2 из цитратов, диацетильный лактококк является гомоферментативным микроорганизмом, так как гомоферментативность и гетероферментативность являются характеристиками основного пути получения бактерией энергии из глюкозы, а глюкозу он сбраживает подобно другим подвидам лактококков в молочную кислоту (до 95% от общего количества сброженной лактозы) без образования CO_2. Для сбраживания цитратов в молоке диацетильный лактококк нуждается в Mn^{2+} [179].

Диацетильный лактококк отличается от *Lc. lactis subsp. lactis* по протеолитической активности, скорости роста в молоке (табл. 3.5) [1308]. По скорости роста в молоке диацетильный лактококк разделяется на две группы: свертывающие молоко при посевной дозе 3% и оптимальной температуре за 4–9 ч («активные» штаммы), т. е. с такой же скоростью, как активные штаммы молочного лактококка, и свертываю-

щие молоко в этих условиях за 14–36 ч («слабые» штаммы) [1215, 1742]. При посевной дозе 1% и температуре 30° С активные штаммы повышали кислотность молока за 5 ч до 40–54° Т, слабые – до 32–34° Т [1742]. По количеству образуемого в молоке диацетила слабые штаммы можно разбить на две группы: представители первой группы образовывали в молоке 0,5–0,75 мг% диацетила, второй – 0,139–0,233 мг%. Слабые и активные штаммы отличаются по протеолитической активности в молоке (табл. 3.5). Активные по росту в молоке штаммы диацетильного лактококка подобно молочному и сливочному 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 пептидов, обладающих горьким вкусом. Включение в состав заквасок для производства твердых сыров с низкими температурами II нагревания слабых штаммов диацетильного лактококка уменьшает опасность появления в них горького вкуса [179, 1308].

Штаммы диацетильного стрептококка 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 [1742].

Сливочный лактококк в дополнение к диагностическим признакам, приведенным в табл. 3.3, отличается от двух других подвидов морфологически: 19,7% клеток сливочного лактококка объединены в короткие цепочки (по 3–5 клеток), 51,1% – в более длинные цепочки, а у молочного и диацетильного лактококков только 10,2 и 6,3% соответственно объединены в короткие цепочки (до 5 клеток), а более длинных цепочек в их культурах вообще нет [1582].

Сливочный лактококк отличается от молочного и диацетильного меньшей метаболической активностью и более низкой устойчивостью к внешним факторам, особенно к содержанию в среде NaCl и активности воды, а также к температуре (табл. 3.4). Его можно рассматривать как вариант молочного лактококка, наиболее адаптированный к молоку. Показательно, что в сыром молоке, отобранном на фермах, чаще встречается молочный, на заводе – сливочный лактококки [164]. Это доказывает, что сливочный лактококк нашел свое место в нише молокоперерабатывающих предприятий.

Многие штаммы сливочного лактококка имеют максимальную температуру для роста в молоке ниже 40° С (35–39° С) [186, 1311]. Так, из 9 штаммов сливочного лактококка ни один не дал заметного роста при 40° С и только один размножался при 39° С [186]. Повышение температу-

ры инкубации с 28–31° С до 35,6° С увеличило продолжительность времени генерации у трех штаммов сливочного лактококка в 5,1–5,3 раза, у двух – в 2,6–2,9 раза, еще у двух – в 1,7–1,9 раза, в то время как у штаммов молочного лактококка – только в 1,2 раза. Штаммы сливочного лактококка более вариабельны по отношению к максимальной температуре для роста, чем штаммы молочного лактококка: некоторые из них хорошо растут при 38° С, другие растут очень медленно при температурах выше 36° С [628]. В молоке с добавлением 0,5–1,0% дрожжевого экстракта многие штаммы сливочного лактококка росли при 37,5° С с такой же скоростью, как при 31,5° С, но только в течение первых двух часов, после чего их рост прекращался или шел с очень низкой скоростью [122]. Это свидетельствует о потере сливочным лактококком при повышенных температурах способности к синтезу какого-то фактора роста, содержащегося в небольших количествах в дрожжевом экстракте.

3.4. Технологические характеристики лактококков и термофильного стрептококка [697, 913, 1311]

Показатели	*Lc. lactis subsp.*			*Str. thermophilus*
	lactis	*diacetylactis*	*cremoris*	
Температура, °С: минимальная	7–10	7–10	7–10	18
оптимальная	28–32	28–32	28–32	39–46
максимальная	40–42	39–41	35–39	53
Свертывание молока (ч) при дозе: 1%	8–12	8–48*	8–16	10–16
3%	4–8	4–36*	5–12	4–6
Обесцвечивание лакмуса в молоке	+	+	+	неполное
Минимальная $A_в$	0,965–0,955	0,965–0,960	0,975	0,984
$ЛД_{50}$ H_2O_2, мг/л	35,6	30	13,7	
Макс. конц. NaCl, %	5,6–7,3	5,6–6,5	3,5	2,34

* С высокой скоростью кислотообразования свертывают молоко через 8–12 и 4–9 ч, с низкой скоростью кислотообразования – через 18–48 и 14–36 ч.
$ЛД_{50}$ – летальная доза в среде, снижающая выход биомассы в среде на 50%.
$A_в$ – активность воды.

Максимальная температура для роста лактококков, по существу, определяет температуру II нагревания при производстве мелких сыров. За рубежом II нагревание при выработке этих сыров проводят при 35° С, т. е. температуре, достаточно благоприятной для кислотообразования и накопления биомассы всех лактококков, в т. ч. *Lc. cremoris* [1147]. В России такая температура недостаточна для достижения необходимой степени синерезиса сычужного сгустка в производстве сыров в связи с невысоким

содержанием казеина и высоким содержанием соматических клеток в молоке (гл. 2 и 7), поэтому ее повышают до 38–42° С [396]. За рубежом такие температуры II нагревания применяют только при производстве Чеддера ускоренным способом [858]. Они слишком высоки для *Lc. cremoris* и поэтому основу большинства российских заквасок для сыров с низкими температурами II нагревания составляют два других подвида лактококков: *Lc. lactis* и *Lc. diacetylactis* [1308], хотя и для многих штаммов этих подвидов температуры 41–42° С выше максимальных для роста.

3.5. Протеолитическая активность в молоке с мелом штаммов Lc. lactis subsp. diacetylactis с высокой и низкой скоростью роста в молоке (культуры выращивали 7 сут при 26–30° С) [1308]

Тип культуры	Содержание азотистых фракций, мг в 100 мл					
	Стерилизованное молоко			Стерилизованное молоко с сычужным порошком (50 мг/л)		
	Растворимые белки	Пептиды	Свободные аминокислоты	Растворимые белки	Пептиды	Свободные аминокислоты
Стерильное молоко	184	141	7,2	359 (+75)*	313 (+172)	7,84 (+0,6)
Активные штаммы	86 (–14)	208 (+67)	22 (+15)	375 (+16)	724 (+411)	25,9 (+18,1)
Слабые штаммы	377 (+193)	127 (–14)	11 (+3)	587 (+228)	686 (+373)	20,9 (+13,1)

* В скобках увеличение или снижение по отношению к соответствующему варианту на стерилизованном молоке

Австралийские ученые нашли, что выдержка микрофлоры мезофильных заквасок во время II нагревания при температурах до 43° С не отражается на ее последующей способности сбраживать углеводы в сыре [858]. В другом опыте стерилизованное молоко инокулировали мезофильными закваскими и выдерживали 30 мин при 45, 47 и 50° С, затем выдерживали при 30° С с измерением кислотности после 2, 4, 9 и 24 ч выдержки. Кислотность в конце опыта во всех вариантах сравнялась, но скорость нарастания кислотности уменьшалась при повышении температуры тепловой обработки [294]. Отсутствия длительного торможения развития лактококков в сыре в результате применения повышенных температур II нагревания можно было ожидать, так как повышение температур по отношению к максимальным для роста лактококков невелико, а микроорганизмы обладают способностью репарировать сублетальные повреждения. Однако для репарации повреждений требуется время, пропорциональное их тяжести, поэтому замедление развития лактококков при высоких температурах II нагревания на какое-то время вполне естественно, а любое замедление роста лактококков во время выработки сыра оказывает крайне негативное влияние на показатели качества и

безопасности сыров. Рамазанов с соавт. получили такую зависимость содержания молочнокислых бактерий (в основном молочного и диацетильного лактококков) в Голландском круглом сыре после прессования от температуры II нагревания:

$$\lg X = 8{,}82 - 0{,}07\,(t - 37), \qquad (3.3)$$

где X – количество молочнокислых бактерий в г, t – температура II нагревания, °С [1598]. *Уравнение справедливо при t от 37 до 43° С.*

В опытах Раманаускаса с соавт. свертывание молока при производстве твердых сыров с низкими температурами II нагревания проводили при 30, 32, 36, 40, 42 и 44° С с использованием мезофильных заквасок, в состав которых входили все три подвида *Lc. lactis*. Скорость накопления общего количества и количества ароматообразующих молочнокислых бактерий с увеличением температуры снижалась, а при 42–44° С отмечалось резкое торможение их развития [1615]. При температуре свертывания 42° С количество ароматообразующих бактерий в зерне в конце обработки было в 9, при 44° С – в 25 раз меньше, чем при 32° С.

Следует сказать, что только по скорости кислотообразования нельзя судить о влиянии субоптимальных факторов на развитие лактококков. При 32° С рост биомассы сливочного лактококка соответствует количеству образуемого им лактата. Повышение температуры, высокие концентрации соли и H^+ разобщают эти процессы и могут полностью подавить размножение, не оказывая столь сильного влияния на кислотообразование [628, 1112]. Полное прекращение размножения сливочного лактококка при довольно высокой скорости кислотообразования наблюдается при концентрации соли больше 3%, температуре 38–40° С. Явление разобщенности процессов размножения и кислотообразования при субмаксимальных температурах наблюдается и в культурах *Lc. lactis* (А. Гудков, Г. Д. Перфильев, неопубликованные материалы). Некоторые считают, что при супероптимальных для лактококков температурах II нагревания часть клеток отдельных штаммов сливочного лактококка погибает [1056]. По-видимому, при повышенных температурах происходят прогрессирующие повреждения клеток, приводящие к расстройству их катаболитических и анаболитических функций, относительно независимых друг от друга, причем скорость нарушения анаболизма значительно выше. Возможно, при повышенных температурах у чувствительных штаммов инактивируются пермеазы, контролирующие транспорт аминокислот через клеточную мембрану [440].

Таким образом, анализ влияния близких к максимальным или немного превышающих максимальные температур на рост и кислотообразующую активность лактококков показывает, что лучше всего температуру во время выработки сыров с низкими температурами II нагревания поддерживать на уровне, не превышающем 36° С. При необходимости интенсифицировать синерезис температуру II нагревания можно повысить до 40° С, применив при этом закваску, в которой доминирующую

роль играют штаммы молочного и диацетильного лактококков, максимальная температура для роста которых выше, чем для сливочного лактококка.



Гудков Анатолий Васильевич 1930–1999 гг.

Методами экспериментальной селекции, например, часовой обработкой этилметансульфонатом при 25° С, из штаммов лактококков, неспособных расти при 38–40° С, удается получить мутанты лактококков, способные образовывать кислоту при этих температурах [308]. Особый интерес вызывают мутанты, быстро лизирующиеся при температуре 40° С, и таким образом высвобождающие внутриклеточные энзимы в самом начале созревания, когда условия для биохимических процессов в сыре наиболее благоприятны.

В твердых сырах с высокими и средними температурами II нагревания (48–57° С) большинство клеток мезофильных лактококков погибает во время II нагревания [1315, 1399]. В опытах Каган и Чистяковой при производстве сыра Советский во время II нагревания (52–55° С, 20–30 мин) количество лактококков снизилось с $3 \cdot 10^7$ до $3{,}7 \cdot 10^3$/г, или в 811 раз [1399]. Однако, гибель большей части клеток лактококков во время II нагревания при производстве крупных сычужных сыров – еще недостаточный повод для их исключения из состава заквасок для производства сыров этой группы [1397], так как они производят значительное количество L(+)-молочной кислоты до своей гибели. Исключение их из состава заквасок может изменить соотношение между L(+)- и DL-молочной кислотой, образуемой некоторыми термофильными лактобациллами, что, в свою очередь, может отразиться на развитии пропионовокислых бактерий, которые утилизируют L(+)-лактат быстрее, чем D(–)-лактат [197]. Термофильный стрептококк, который образует правовращающую молочную кислоту, не может служить равноценной заменой лактококкам, так как обладает высокой чувствительностью к наличию в молоке ингибирующих веществ и к бактериофагам, а также несколько медленнее растет при температурах свертывания молока сычужным энзимом [1665]. Замена лактококков закваски для крупных сыров термофильным стрептококком приводит к увеличению содержания галактозы в сыре (лактококки сбраживают лактозу без накопления в среде галактозы, а термофильный стрептококк ферментацию лактозы начинает с ее гидролиза в среде на глюкозу и галактозу, утилизация галактозы идет после сбраживания глюкозы) [245]. Большое количество галактозы, остающейся в сыре, может изменить соотношение между мезофильными и термофильными молочнокислыми бактериями в сыре и повлиять на его качество. В то же время слишком интенсивное развитие лактококков может привести к появлению горечи в крупных сырах, которая

не встречается при правильном соотношении между лактококками и термофильным стрептококком [1267].

На супероптимальные для лактококков температуры по-разному реагируют штаммы, образующие и не образующие горечь в сырах: «горькие» штаммы сливочного лактококка хорошо росли и быстро образовывали кислоту при 31,5 и 37,5° С, а «негорькие» штаммы при 37,5° С прекращали рост через 2 ч, продолжая образовывать молочную кислоту [122, 440, 610]. Добавление в молоко 1% дрожжевого экстракта не стимулировало размножения негорьких штаммов при повышенных температурах. Явление разобщенности процессов роста и кислотообразования следует использовать для отбора в состав мезофильных заквасок для производства сыров штаммов лактококков, образующих кислоту, но прекращающих размножение при повышенных температурах II нагревания, что может уменьшить вероятность появления горечи в сырах и повысит устойчивость закваски к бактериофагу (репродукция бактериофагов происходит только в размножающихся культурах).

Изучено развитие лактококков и лейконостоков в пастеризованном (74–75° С) молоке с сычужным порошком при температурном режиме, имитирующем температурный режим выработки твердых сыров с низкой температурой II нагревания [1225]. Молоко после инокуляции 0,5% исследуемой культуры выдерживали 2 ч при 30–32° С, нагревали 10–15 мин до 40–41° С, выдерживали при этой температуре 2 ч, после чего оставляли на 5 ч при комнатной температуре, а затем инкубировали при 8–10° С в течении 7 сут. Кислотообразование культурами при этом режиме показано в табл. 3.6. Приведенные данные свидетельствуют о более высокой кислотобразующей активности молочного и активного диацетильного лактококков по сравнению со сливочным в первые 9 ч инкубации при комбинированном режиме: через 4 ч инкубации (после выдержки при температурах II нагревания) кислотность молока на 3–4° Т повысили 39,6 и 48,4% штаммов первых двух подвидов соответственно и только 14,1% сливочного лактококка; после 9 ч инкубации кислотность повысилась более чем на 31° Т в 47,2% культур молочного, 35,4% активного диацетильного и 7,1% сливочного лактококков. Положение изменилось после 7-суточной выдержки при 8–10° С: в конце этого периода только в 5,7% культур молочного лактококка кислотность повысилась на 61–80° Т по сравнению с 41,2% культур сливочного лактококка. Авторы работы не объясняют этот феномен. Возможно, при этих температурах степень гетеротрофности процесса сбраживания лактозы у сливочного лактококка ниже, а выход кислоты выше, чем у молочного и, особенно, диацетильного лактококка. Если это так, то свидетельствует о преимуществах сливочного лактококка, так как продукты гетероферментативного брожения участвуют в синтезе соединений, вызывающих пороки в сырах (гл. 12).

Определенный интерес для сыроделия представляет минимальная температура для роста лактококков, равная для всех видов 7–10° С [1311]. При 8° С размножались 50% штаммов молочного лактококка, выделенных из Голландского сыра, при этом 20% повышали кислот-

ность молока при этой температуре за 7 сут на 30–60° Т, 20% – на 61–80° Т, 10% – более чем на 80 °Т; 67,7% штаммов сливочного лактококка росли при 8° С [1681]. Оптимальные температуры для созревания большинства твердых сыров выше 10° С, следовательно, температуры созревания сыра не препятствуют росту лактококков.

3.6. Кислотообразующая активность лактококков и лейконостоков при температурном режиме, имитирующем режим выработки мелких сыров [1225]

t, °С	Время выдержки, ч	Прирост кислотности, °Т	Наименование и количество культур, % от испытанных				
			Подвиды лактококков				*Str. paracitrovorus (9)*
			lactis (53)	*cremoris (85)*	*diacetylactis*		
					актив. (31)	слабый (60)	
30–32	2	0	30,2	54,1	38,8	50,0	89,9
		1	47,2	31,8	29	46,7	10,1
		2	20,7	14,1	16,1	3,3	0
		3–4	1,9	0,0	16,1	0	0
40–41	2(4)*	0	3,8	16,5	0	36,7	77,8
		1	17,0	24,7	25,8	33,3	22,2
		2	39,6	44,7	25,8	25	0
		3–4	39,6	14,1	48,4	5	0
41–25	5(9)	1–10	7,5	40	6,5	93,3	100
		11–20	34	37,6	22,6	1,7	0
		21–30	11,3	15,3	35,5	0	0
		31–40	26,4	2,4	22,6	5	0
		41–50	17	4,7	12,8	0	0
		51–60	3,8	0	0	0	0
8–10	7 сут	1–10	0	0	0	3,3	22,1
		11–30	20,7	1,2	32,3	73,3	44,4
		31–50	52,8	22,3	54,8	21,7	33,3
		51–60	15,1	35,3	12,9	0	0
		61–70	5,7	38,8	0		0
		71–80	0	2,4	0	1,7	0

* В скобках – продолжительность выдержки с момента заквашивания

Из пастеризованного молока были выделены штаммы молочного лактококка, способные расти на агаре из гидролизованного молока при 5° С [1525]. Интересно, что в сыром молоке такие штаммы не были обнаружены. Вероятно, они попали в пастеризованное молоко после пастеризации, а следовательно, местом обитания таких штаммов является сам завод. Позднее о выделении из пастеризованного молока психротрофных вариантов всех трех подвидов лактококков сообщили и другие авторы [1048]. Интересно, что эти штаммы проявляли более высокую протео-

литическую активность при 5° С, чем при 20° С. Их кислотообразующая активность при 5° С была очень низкой. Появились предложения включить такие штаммы в состав мезофильных заквасок для сыра и снизить температуру созревания мелких сычужных сыров, что могло бы ограничить возможности роста технически вредной поверхностной микрофлоры. Однако снижение температуры резко замедляет созревание сыра, а также гибель патогенной и условно патогенной микрофлоры, полной гарантии отсутствия которой в сыре на начальных этапах созревания при современном способе производства дать нельзя. Во время созревания большинство этой микрофлоры погибает, поэтому в США разрешается вырабатывать сыры из непастеризованного молока с низкой бактериальной обсемененностью, если они созревают при определенных температурах не менее 60 сут. При низких температурах созревания скорость отмирания патогенной микрофлоры резко снижается.

Психротрофные лактококки могут найти применение при созревании при низких температурах пастеризованного молока, предотвращающем репарацию сублетальных повреждений клеток посторонней микрофлоры, полученных в результате пастеризации, а следовательно, их реактивацию и размножение во время созревания.

Для молочного лактококка обычно характерна меньшая продолжительность фазы задержки роста и более высокая скорость кислотообразования в молоке, чем у сливочного лактококка [1304, 1308]. Так, в молоке с сычужным порошком при посевной дозе 0,5% при 30–32° С не дали прироста кислотности за 2 ч 30% штаммов молочного и 54% сливочного лактококков. Количество же штаммов, повысивших за это время кислотность молока на 2° Т и более, у первого подвида равнялось 23, у второго – 14%. При 3 %-ной посевной дозе прирост кислотности за первые 6 ч инкубации при 30–32° С у штаммов молочного лактококка составил 14–21° Т, сливочного – 14–16° Т, диацетильного – 10–20° Т [1304]. От стартовой скорости развития лактококков при производстве сыра во многом зависит качество продукта, так как во время выработки сыра в сырной ванне условия для их размножения оптимальны и, если они не будут использованы лактококками в максимальной степени, то значительно больше лактозы будет сброжено посторонней микрофлорой или лактококками во время созревания сыра, когда лактоза сбраживается ими по гетероферментативному пути из-за низкой температуры. Образование в сырах больших количеств продуктов гетероферментативного брожения усиливает опасность появления многих пороков сыра.

Скорость кислотообразования (моль молочной кислоты/ч) в молоке в условиях, моделирующих временные и температурные режимы выработки и прессования российских сыров с низкими температурами II нагревания, у штаммов молочного и диацетильного (активного) лактококков (90,6% изученных штаммов) находилась в интервале 5,5–11,5, у штаммов сливочного лактококка – 1,0–5,5, у слабых штаммов диацетильного лактококка 1,05–3,50 [1224]. Эти различия для сливочного лак-

тококка обусловлены прежде всего его отрицательной реакцией на температуры нагревания (39–41° С), а у слабых штаммов диацетильного лактококка, вероятно, недостаточной протеолитической активностью и низким содержанием в молоке низкомолекулярных азотистых соединений, необходимых для роста лактококков. Внесение в восстановленное молоко для выработки сыра 0,1% дрожжевого автолизата сделало возможным выработать сыр на «медленных» штаммах лактококков, при этом выход сыра увеличился [418]. Объяснить увеличение выхода можно тем, что «медленные» штаммы лактококков обладают низкой протеолитической активностью в молоке, и поэтому при их использовании в качестве закваски потери белка с сывороткой ниже, чем при использовании быстрорастущих в молоке штаммов лактобактерий, которые обладают высокой протеолитической активностью в молоке. Обогащение молока дрожжевым экстрактом увеличило скорости размножения и кислотообразования «медленными» штаммами лактококков. Как указывалось выше, лактококки на начальных этапах роста в молоке, по крайней мере в течение первых 2–3 генераций, не могут расщеплять казеин и поэтому нуждаются в низкомолекулярных пептидах или/и свободных аминокислотах, содержание которых в молоке может быть недостаточным для полного удовлетворения потребностей, особенно сливочного и слабого диацетильного лактококков (разд. 3.2.3) [1519, 1706]. Поэтому добавление в молоко низкомолекулярных азотистых соединений стимулирует развитие и «быстрых» лактококков. При совместном развитии в молоке большинство штаммов сливочного и молочного лактококков, исключая низинобразующие, стимулируют рост друг друга и других видов лактобактерий с низкой скоростью роста в молоке [186, 1568].

Сливочный лактококк менее устойчив к соли [1311, 1330]. Отсутствие роста его в бульоне с 4% NaCl является диагностическим признаком (табл. 3.4), так как два других подвида лактококков растут в среде с 5,0–5,5% соли. Имеются данные о способности сливочного лактококка образовывать кислоту, но не размножаться при содержании в среде более 4% соли [1110].

Более точным показателем устойчивости микроорганизмов к соли является минимальная активность воды для роста. Этот показатель зависит от концентрации и химического состава всех растворенных в водной фазе веществ. Минимальная активность воды для роста молочного лактококка равна 0,955, а для сливочного лактококка – 0,975, что соответствует активности воды в сыре Российский после прессования с содержанием 42–44% влаги и соответственно 3,5 и 2,0% соли. В табл. 3.4. приведены значения минимальной активности воды для роста лактококков, полученные в питательных средах с NaCl. В средах с использованием в качестве водосвязывающего вещества глицерина они значительно ниже (0,924 для молочного лактококка). Следовательно, соль ингибирует рост лактококков не только за счет связывания воды в среде. Особого значения устойчивость к соли лактококков в производстве оте-

чественных твердых сыров не имеет, так как рост их в сыре заканчивается намного раньше, чем соль распределится по всей массе головки сыра. Исключением является сыр Российский с полной посолкой в зерне, производство которого в настоящее время запрещено именно в связи с ингибированием солью роста лактококков. Есть данные, что 1–2% NaCl в среде стимулируют кислотообразование диацетильного лактококка [690].

Чрезвычайно важна устойчивость лактококков к соли в производстве Чеддера, который равномерно просаливается в конце выработки перед прессованием [1706]. Сливочный стрептококк сбраживал лактозу в этом сыре, если концентрация соли в водной фазе сыра не превышала 4% (около 1,6% в сыре). В сырах с 6% соли в водной фазе лактоза очень долго оставалась несброженной при использовании для выработки закваски из сливочного лактококка, и сбраживали ее не микроорганизмы закваски, а педиококки.

Молочный лактококк медленнее вымирает в сухих и замороженных заквасках во время хранения [871], менее чувствителен к перекиси водорода, хотя этот показатель в большой степени зависит от штамма. Некоторые виды и штаммы молочнокислых палочек могут образовывать в среде такое количество перекиси водорода, которое существенно снижает активность сливочного лактококка при совместном его росте с лактобациллами. Устойчивость сливочного и молочного лактококков к H_2O_2 можно повысить их выдержкой в присутствии сублетальных концентраций перекиси или часовой экспозицией в аэробных условиях [1062]. Это очень важно с точки зрения разработки биологических методов борьбы с посторонней микрофлорой (разд. 3.2.3).

Лактококки отличаются довольно высокой устойчивостью к кислотности среды. Минимальный pH для них равен 4,2–4,4, предельная титруемая кислотность в молоке 100–120° Т [628, 1446, 1448]. Однако эти пределы установлены по прекращению образования кислоты лактококками, а размножение их прекращается раньше, при pH ~4,5 [75]. Выдержка лактококков в среде с pH меньше 5 вызывает существенные изменения в клетках и увеличивает продолжительность фазы задержки роста при последующих пересадках [628]. Максимальную активность при пересадках показывают культуры при pH 5,0, когда количество жизнеспособных клеток достигает достаточно высокого уровня, а их активность еще не начала снижаться. Оптимальный pH для роста лактококков в молоке и бульоне 6,3–6,5, скорость размножения существенно снижается при pH ниже 6 или выше 7. Предельная кислотность в молоке зависит от подвида и штамма: для 16 штаммов лактококков, исследованных по этому показателю в отделе микробиологии ВНИИМС, она составила от 93 (штаммы диацетильного лактококка с низкой скоростью кислотообразования) до 115° Т, минимальный pH изменялся от 4,46 до 4,22 [1431]. У большинства штаммов диацетильного лактококка с низкой скоростью кислотообразования в молоке предельная кислотность в молоке была меньше 80° Т [1224].

В оптимальных по составу питательных средах главным фактором, лимитирующим рост сливочного лактококка, является активная кислотность. Так, урожай клеток лактококков в оптимальной среде с контролируемым pH достигает $(3–6)\cdot10^{10}$ /мл (7–8 мг сухого веса/мл), а в этой же среде с неконтролируемым pH он равен $1,5\cdot10^{9}$/мл или ~ 0,5 мг сухого веса/мл [75, 628]. Сухой вес сливочного лактококка в pH-стате при pH 6,3 и прочих оптимальных условиях достигает 10 мг/мл [908]. Оптимальный для скорости роста в полноценной среде pH 6,3–6,9, при концентрации лактозы 37 г/л. Выходы кислоты и биомассы не зависят от pH в интервале 5,6–7,5 и концентрации лактозы 48,5–38 г/л [87]. Сыры отличаются довольно высокой буферностью, поэтому представляет интерес действие недиссоциированной молочной кислоты на развитие лактококков. Предельная концентрация лактатов, при которой возможен их рост при прочих оптимальных условиях, в зависимости от штамма равна 5,0–7,0% [75, 87, 331]. Сливочный лактококк не всегда рос в бульоне с содержанием лактатов больше 4%, другие подвиды росли при более высокой концентрации лактатов [222]. Торможение развития лактококков и лейконостоков в питательной среде при прочих оптимальных условиях, по наблюдениям Перфильева и Рогова (1989), происходит при содержании больше 2% лактатов.

В сырах с 40% влаги содержание молочной кислоты в водной фазе, равное 5%, соответствует 2,1% кислоты в сыре. В зарубежных сырах голландской группы, Чеддере содержание лактатов примерно равно 1,5–1,8%, в отечественных – 1,5–2,1%, в сырах с колющейся консистенцией содержание кислоты может достигать 2,4–2,7%, или примерно 5,6–6,3% в водной фазе [1113, 1430], в Швейцарском сыре – 1,35% [1027]. Более высокое содержание кислоты в отечественных сырах обусловлено меньшим количеством воды, добавляемой в сыворотку во время их выработки. Таким образом, содержание молочной кислоты в сырах с низкой температурой II нагревания, особенно отечественного производства, находится на уровне, при котором рост лактококков невозможен. При этом нужно учесть, что температура созревания сыров также неблагоприятна для их роста. Показано, что рост и кислотообразование микрофлоры мезофильных заквасок в значительной степени тормозится уже при pH меньше 5,7 и содержании лактатов больше 1% [785].

Таким образом, напрашивается вывод, что рост лактококков в сырах прекращается не после того, как в них перестанет обнаруживаться лактоза, как обычно считается, а раньше. Другими словами, лактококки не всегда могут сбродить всю лактозу, остающуюся в сырной массе. В экстракте трехмесячного сыра Манчего лактококки не росли даже после обогащения его дрожжевым экстрактом и лактозой и внесении в экстракт каталазы для дезактивации токсичных радикалов O_2, которые могли образоваться во время созревания сыра [695]. Скорее всего рост лактококков в экстрактах был ингибирован или подавлен комбинацией низкого pH, высокой концентрации недиссоциированной кислоты, а в сырах также низкими температурами созревания. Каждый этот фактор в

сыре недостаточен для подавления развития лактококков, а при совместном действии они усиливают действие друг друга.

Увеличение биомассы лактобацилл прекращается позднее, чем у лактококков, из-за более высокой их устойчивости к кислоте. Добавление в экстракт сыра лактозы возобновляет накопление биомассы *Lbc. casei*, следовательно, рост ее в сыре прекратился в связи с исчерпанием источников энергии.

Количество остающейся в сырной массе лактозы и молочной кислоты зависит от технологии сыра, в частности от степени разбавления сыворотки водой, скорости молочнокислого процесса в сырной ванне. Регулируя содержание этих компонентов в сырах после прессования, мы будем в определенной степени регулировать и уровень развития в сырах молочнокислых бактерий незаквасочного происхождения, в частности лактобацилл, педиококков, энтерококков.

После достижения максимума содержание жизнеспособных клеток лактококков в сырах начинает снижаться. Однако это снижение нельзя считать достаточным доказательством прекращения размножения лактококков, поскольку процесс размножения может идти параллельно с процессом отмирания клеток.

Лактококки не используют кислород в энергетическом обмене, но связывают большую часть растворенного в среде кислорода и тем самым снижают окислительно-восстановительный потенциал и создают условия, необходимые для своего размножения, поскольку несвязанный кислород ингибирует их развитие, особенно на лактозе [148, 395, 1576, 1578]. Справедливости ради нужно отметить, что небольшие концентрации кислорода в среде могут стимулировать рост лактококков: рост сливочного и молочного лактококков при 20° С и pH 5,05–5,45 в атмосфере азота в присутствии 0,5% O_2 был на 17,5% выше, чем в отсутствие O_2 [532]. Лактококки в молоке и синтетических средах обладают абсолютной потребностью в CO_2.

При посевной дозе 1% и температуре 30° С лактококки за 8–10 ч инкубации поглощали от 30,6% (активный диацетильный лактококк) до 77,2% (сливочный лактококк) растворенного в молоке кислорода, его концентрация снижалась до 2,5–5,9 мкг/мл. Поглощение кислорода сопровождается накоплением в молоке 0,03–0,19 ммоль H_2O_2, которая затем расщепляется без образования кислорода с помощью NADH-пероксидазы [1071, 1576]. За короткий срок окислительно-восстановительный потенциал в культурах лактококков снижался до –(250–410) мВ [148]. Поглощение кислорода и снижение Eh лактококками играет большую роль в сыроделии, так как это создает необходимые условия для биохимических процессов, лежащих в основе созревания сыра, и делает невозможным размножение строгих аэробов в сырной массе.

Молочный лактококк широко распространен в природе благодаря высокой метаболитической активности и устойчивости к внешним факторам, что облегчает пополнение коллекции производственных штаммов лактококков [908].

Сгусток молока, образованный молочным лактококком, обладает более высокой синеретической способностью, чем образованный сливочным лактококком. В опытах Сухоцкене сгустки с очень хорошей, хорошей и удовлетворительной синеретической способностью давали соответственно 44, 50 и 6% штаммов молочного и 8, 58 и 34% штаммов сливочного лактококка [1679].

Сгусток, образованный сычужным энзимом в кооперации со сливочным лактококком, медленнее отделяет сыворотку, что замедляет обсушку зерна и увеличивает влажность и выход сыра, ускоряет его созревание и улучшает консистенцию, но также может быть причиной более интенсивного роста посторонней микрофлоры и излишне кислого вкуса сыра [1377].

Одной из причин появления горечи в сырах могут быть специфические особенности расщепления казеина входящими в закваску штаммами молочнокислых бактерий. В табл. 3.7. показана частота обнаружения штаммов лакококков и лейконостоков, образующих горечь в молоке. По частоте обнаружения штаммов, способных накапливать горькие продукты в молоке с сычужным энзимом и мелом, лактококки располагались в следующем порядке: молочный > диацетильный активный > сливочный > диацетильный слабый. Штаммы, не дающие горечь в молоке, среди штаммов сливочного лактококка встречались в 7,8 раза чаще, чем среди штаммов молочного лактококка. Как правило, штаммы молочного лактококка, обладающие достаточно высокими скоростями роста и кислотообразования при повышенных температурах, образовывали среднюю и сильную горечь в молоке после 7 сут 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, в закваски для производства сыров целесообразно вносить комбинации «горьких» и «негорьких» штаммов, которые обеспечивают достаточную скорость кислотообразования и не дают в сырах горечи. Таким образом, в отношении образования горьких продуктов сливочный лактококк имеет несомненное преимущество перед молочным, что подтверждается многими авторами [1073].

***3.7. Частота обнаружения штаммов молочнокислых бактерий, образующих горечь в молоке с сычужным ферментом и мелом* [1308]**

Показатели	Количество штаммов, % от изученных				
	Lactococcus:				Лейконостоки (18)
	lactis (165)	*cremoris* (96)	*diacetylactis*		
			активный (104)	слабый (76)	
Не дающих горечь	3,6	28,1	8,65	44,7	100
Дающих слабую горечь	65,4	57,3	76,92	46,0	0
Дающих среднюю и сильную горечь	31,0	14,6	14,43	9,3	0

Примечание: в скобках общее количество исследованных штаммов

Имеются сообщения о более высокой специфичности сливочного лактококка к бактериофагам [1073]. Однако исследования видовой и штаммовой специфичности бактериофагов к микрофлоре мезофильных заквасок, выделенных на 13 сыродельных заводах бывшего СССР, расположенных в различных географических зонах, это не подтвердили (табл. 3.8) [397, 1311]. Были обнаружены бактериофаги к большинству штаммов лактококков, использованных в качестве тест-культур в этих исследованиях; частота обнаруживаемости бактериофагов по отношению к различным подвидам лактококков была почти одинаковой. Бактериофаги к двум штаммам молочного (5%) и двум штаммам сливочного (8%) лактококков не были найдены.

3.8. Распространенность бактериофагов лактококков и лейконостоков на сыродельных заводах бывшего СССР

Микроорганизмы	Количество штаммов	% штаммов, к которым обнаружены фаги	Количество проб*	
			общее	% положительных
Лактококки:				
диацетильный	29	97	2334	8,9
молочный	38	95	3078	7,9
сливочный	26	92	2222	9,1
Лейконостоки	8	62,5	894	3,8

* Под пробой принято взаимодействие одного штамма с фильтратом молока, сыворотки, закваски или сыра

Некоторые штаммы молочного лактококка синтезируют антибиотик низин, обладающий достаточно широким спектром антибактериального действия по отношению к посторонней микрофлоре сыров [397, 1483]. К сожалению, эти штаммы пока не нашли широкого применения в сыроделии, поскольку они обладают низкой кислотообразующей активностью и высокой чувствительностью к бактериофагам, а сам низин ингибирует рост активных кислотообразователей закваски и пропионовокислых бактерий.

Штаммы сливочного и молочного лактококков, образующие другой антибиотик – диплококкцин (типа бактериоцинов), также не нашли достаточно широкого применения из-за узкого спектра действия этого антибиотика, направленного в основном на другие виды и штаммы молочнокислых бактерий [397, 1339]. Некоторые штаммы лактококков образуют бактериоцины с широким спектром действия против грамположительных и грамотрицательных бактерий [1262].

Некоторые штаммы *Lc. lactis* образуют в сырах фруктовый и солодовый привкус, сливочный лактококк такой способностью не обладает [331].

Из анализа недостатков и достоинств молочного и сливочного лактококков нельзя сделать однозначный вывод о том, какой подвид следует включать в закваски для сыров с низкими температурами II нагревания.

Выработки сыров, проведенные в экспериментальном цехе ВНИИМС, показали, что сыры высокого качества можно вырабатывать на угличской закваске, в которой доминируют молочный и диацетильный лактококки, и зарубежных закваска, в которых лактококки представлены сливочным и диацетильным лактококками с низкой кислотообразующей активностью, хотя в некоторых случаях сыры с зарубежными заквасками оценивались немного выше. В производственных условиях, наоборот, сыры с заквасками, в которых преобладали штаммы молочного лактококка, как правило, оценивались выше. Закваски, в которых кислотообразующие микроорганизмы представлены сливочным лактококком, требуют более высокого качества молока и санитарно-гигиенического уровня производства и соответствующей корректировки технологии. Некоторые авторы считают, что лучшие результаты дает закваска, в состав которой входят сливочный и молочный лактококки [44]. Этот принцип соблюдается в подборе микрофлоры угличских заквасок, но из-за различных скоростей роста сливочного, молочного и диацетильного лактококков, особенно во время II нагревания и какое-то время после него, в сырах, выработанных на этих заквасках, доминируют последние два подвида. *Limsowtin* считает целесообразным использовать в составе закваски для производства сыра Чеддер сливочный и молочный лактококки в отношении 2:1 [648]. Продолжительность выработки сыра Чеддер с комбинированными культурами этих подвидов сокращалась на 7,5–12,5% [1568].

3.2.5. Лейконостоки

Классификация

Лейконостоки – второй компонент заквасок для производства сыров с низкими температурами II нагревания и правильным рисунком, сыров типа Рокфор и кисломолочных сыров. Это не противоречит высказанному в предыдущем разделе положению о том, что лактококки являются необходимой и достаточной микрофлорой для производства твердых сыров с низкими температурами II нагревания, так как при наличии диацетильного лактококка лейконостоки не являются необходимой микрофлорой для выработки этих сыров. Справедливо и обратное заключение: при включении лейконостоков в состав заквасок для твердых сыров с низкими температурами II нагревания наряду со сливочным или молочным лактококками нет необходимости вводить в них диацетильный лактококк. Диацетильный лактококк и лейконостоки – два компонента газообразующей микрофлоры мезофильных заквасок для сыра, которые могут быть использованы в составе заквасок совместно и порознь [1055].

Лейконостоки – факультативные анаэробы. Главным отличием лейконостоков от лактококков является гетероферментативность сбраживания глюкозы и лактозы с образованием D(–)-лактата, этанола и CO_2 в качестве основных продуктов (рис. 3.1), а также медленный рост в молоке. Возможность взаимозамены лейконостоков и *Lc. lactis subsp. diacetylactis* обусловлена тем, что обе группы этих микроорганизмов образуют диацетил и CO_2, т. е. относятся к газообразующей микрофлоре

заквасок, однако диацетильный лактококк образует эти соединения только из цитратов, а лейконостоки из лактозы и цитратов (в присутствии сбраживаемого углевода). У диацетильного лактококка способность образовывать диацетил и CO_2 может быть утрачена, у лейконостоков она является стабильным свойством, так как закодирована в хромосомах. Лейконостоки трансформируют в молочную кислоту около 65% сброженной глюкозы или лактозы, лактококки – до 95%.

Лейконостоки филогенетически принадлежат к группе *Lactobacilli*, куда, кроме них, входят два рода: *Lactobacillus* и *Pediococcus*. В 8-ом издании Берги род лейконостоков был разделен на шесть видов: *Leuc. mesenteroides, Leuc. dextranicum, Leuc. cremoris. Leuc. lactis, Leuc. paramesenteroides* и *Leuc. oenes* [1450]. Последующие генетические исследования показали столь тесное родство первых трех видов, что их решили объединить в один вид *Leuc. mesenteroides* с тремя подвидами: *mesenteroides, dextranicum* и *cremoris*. Генетически лейконостоки находятся в наиболее тесном родстве не с лактококками, с которыми они схожи морфологически, а с некоторыми гетероферментативными молочнокислыми палочками (*Lbc. confusis, Lbc. viridescens* и др.), от которых они отличаются по форме клеток [227, 492]. Однако часто лейконостоки имеют удлиненную форму и их трудно отличить от палочек [1422]. В 9-ом издании Берджи род *Leuconostoc* входит в группу 17 «Грамположительные кокки» [1552] и насчитывает 9 видов. Дифференцирующие характеристики *Leuc. mesenteroides* и *Leuc. lactis* показаны в табл. 3.9 (другие виды роли в сыроделии не играют).

***3.9. Дифференцирующие признаки лейконостоков* [227, 345, 1552]**

Показатели	*Leuc. mesenteroides subsp.*			*Leuc. lactis*
	mesenteroides	*dextranicum*	*cremoris*	
Лимонно-желтый пигмент	–	–	(–)	–
Кислота из: арабинозы	м	–	–	–
фруктозы	+	+	–	+
сахарозы	+	+	–	+
трегалозы	+	+	–	–
мальтозы	+	+	м	+
меллибиозы	+	+	м	м
салицина	м	(–)	–	м
Гидролиз эскулина	м	м	–	–
Образование декстрана	+	+	–	–
Диссимиляция цитратов (в присутствии углеводов)	м	м	+	м
Рост: при pH 4,8	–	–	–	–
в присутствии 10% этанола	–	–	–	–
при 37° С	м	+	–	+

Примечания: «+» – 90% и более положительны; «–» – 90% и более отрицательны; м – 21–79% положительны; (–) – 11–20% положительны.

В производстве сыров обычно используют *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris* (синонимы *Betacoccus cremoris, Leuc. citrovorum*), далее «сливочный лейконосток». От других видов и подвидов его отличает низкая метаболитическая активность, повышенная чувствительность к внешним факторам и очень сложные питательные потребности, особенно в аминокислотах, отсутствие хотя бы одной из них делает рост его невозможным [1450]. Дополнительным отличием его является расположение большого количества клеток в виде длинных цепочек, тогда как клетки других лейконостоков расположены по одиночке и в виде коротких цепочек.

Производственные штаммы лейконостоков Угличской экспериментальной биофабрики не свертывали молоко или свертывали его при посеве петлей через 36–48 ч без обесцвечивания лакмуса; предельный прирост кислотности молока при их культивировании при 30° С составлял 20–42° Т. В летнем молоке они росли лучше, чем в весеннем и зимнем.

Рост в молоке и сыре, влияние на качество сыра

Лейконостоки медленно растут в молоке и обычно его не свертывают, лакмус не восстанавливают. Только отдельные штаммы лейконостоков свертывают молоко с восстановлением лакмуса после свертывания.

Часть клеток всех штаммов лейконостоков выживает при температуре 65° С с выдержкой в течение 30 мин [1347]. Исследования производственных штаммов лейконостоков, применяемых на Угличской экспериментальной биофабрике для производства бактериальных заквасок для сыров (ранее они фигурировали под названиями *Str. citrovorus* и *Str. paracitrovorus*), показали, что 16,3% их принадлежит к *Leuc. lactis* (далее молочный лейконосток), 63,7% – к сливочному лейконостоку и остальные имели промежуточные свойства между *Leuc. lactis* и *Leuc. dextranicum* [1308, 1751]. Следует отметить, что *Str. paracitrovorus* нельзя считать синонимом молочного лейконостока, выделенного из рода лейконостоков в самостоятельный вид Гарви в 1960 г. [343, 1450]. Культуры, описанные в 1928 г. Hammer и названные им *Str. paracitrovorus*, Гарви отнесла к педиококкам или *Leuc. dextranicum*. От сливочного лейконостока он отличается способностью сбраживать большее количество углеводов и более высокой устойчивостью к температуре, соли и pH, менее сложными питательными потребностями [1450]. Некоторые отличия молочного лейконостока от сливочного показаны в табл. 3.10. В средах с глюкозой и лактозой продолжительность лаг-фазы его была в 3,4 и 1,2 раза ниже, а средняя скорость роста в 1,3 и 1,75 раза выше, чем у сливочного лейконостока. В то же время в молоке при 10° С несколько быстрее развивался сливочный лейконосток.

Казалось бы, сливочный лейконосток можно считать вариантом, адаптировавшимся к молоку и молочным продуктам, поскольку в природе ему трудно конкурировать с другими представителями лейконостоков, однако и в молоке он растет очень медленно. Основной природной средой их обитания являются растительные массы, в частности силос; большой ущерб они наносят в сахарной промышленности (*Leuc. me-*

senteroides сохраняет жизнеспособность в средах с 60% сахарозы) и виноделии [299, 1073]. В человеческом организме они не растут.

3.10. Физиолого-биохимические свойства Leuc. mesenteroides subsp. cremoris и Leuc. lactis [1751]

Показатели	*Leuc. lactis*			*Leuc. cremoris*		
	Лаг-фаза, ч	Скорость роста, ед. опт. плотности/ч	Время дост. макс., ч	Лаг-фаза, ч	Скорость роста, ед. опт. плотности/ч	Время дост. макс., ч
Рост в среде с						
глюкозой	5	1,9	24	17	1,5	36
галактозой	24	0,35	>96	24	0,35	>96
лактозой	17	0,7	96	20	0,4	>96
Рост при 10° С	75	0,6	130	60	0,8	120
30° С	14	4,5	27	15	4,1	29
37° С	16	1,1	72	–	–	–

Изучение американскими учеными роста *Leuc. citrovorum* в обезжиренном молоке при 22 и 30° С показало, что при 22° С максимальный уровень биомассы достигался через 22 ч, при 30° С – через 18 ч [368]. Урожай клеток был, в зависимости от штамма, одинаковым при обеих температурах или более высоким при 22° С. Стационарная фаза продолжалась до 100 ч и более при 22° С и 26–72 ч при 30° С. Среднее время генерации при 30° С равнялось 3,2 ч, при 22° С – 3,8 ч, для некоторых штаммов оно равнялось 2,4 и 3,1 ч соответственно. Урожай биомассы лейконостоков в молоке составляет $(3,3–8,4)\cdot10^8$/мл [1481].

Получены положительные результаты по увеличению кислотообразующей активности сливочного лейконостока путем трансформации хромосомной ДНК из молочного лактококка [671]. Если родительский штамм сливочного лейконостока снижал pH обезжиренного молока при 30° С за 48 ч до 6,2, то генетически преобразованный – до 5,6, при этом гетероферментативный путь сбраживания лактозы сохранился.

В отделе микробиологии ВНИИМС изучен рост производственных штаммов лейконостоков из коллекции Угличской биофабрики в молоке с реннетом [1752]. Параметры их роста (средние данные) приведены на рис. 3.5.

Оптимальная температура роста для изученных штаммов равнялась 22–26° С. Удельная скорость роста, продолжительность лаг- и логфаз роста, урожаи клеток изученных штаммов практически не менялись в интервале температуры от 20 до 30° С. Средняя продолжительность лаг-фазы равнялась 2,6 ч, удельная скорость роста – 0,51 $ч^{-1}$, время удвоения биомассы – 1,3 ч. Сравнивая эти данные с результатами изучения американскими учеными роста лейконостоков в молоке без добав-

ления сычужного фермента, приведенными выше, можно сделать вывод о сильном стимулировании роста лейконостоков в молоке химозином, а следовательно, о нехватке низкомолекулярных азотистых соединений как одной из причин слабого роста лейконостоков в молоке. Рост лейконостоков в молоке во время выработки сыра также стимулирует лактококковая микрофлора закваски путем образования низкомолекулярных азотистых соединений и, возможно, других факторов роста [663, 1055]. В то же время в жидких незабуференных средах лактококки ингибируют рост лейконостоков за счет быстрого снижения pH [1753].

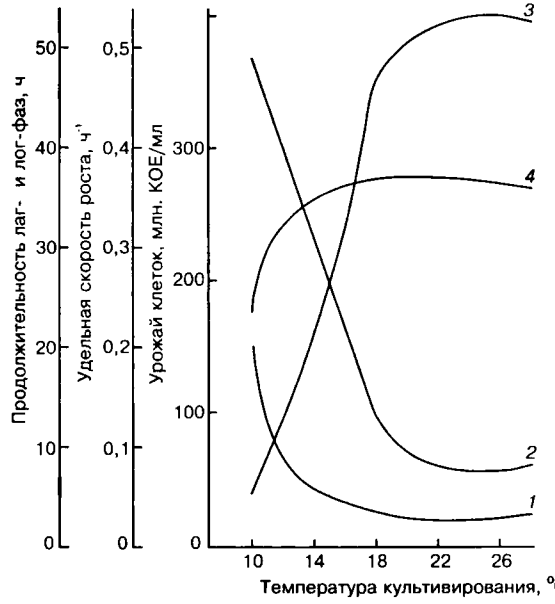


Рис. 3.5. *Зависимость продолжительности лаг-фазы (1), лог-фазы (2), удельной скорости роста (3), урожая клеточной биомассы (4) лейконостоков от температуры культивирования в молоке с сычужным ферментом*

Несмотря на стимуляцию сычужным энзимом и лактококками, лейконостоки делают за время выработки сыров с низкими температурами II нагревания (от момента заквашивания до конца прессования), в среднем только 0,6 генерации при 3 генерациях лактококков [663]. Это обусловлено слишком высокими для их роста температурами, применяемыми при выработке сыров, и длительной лаг-фазой, зависимость числа генераций от которой выражается уравнением:

$$y = 2{,}6 - 0{,}7x, \qquad (3.4)$$

где x – продолжительность лаг-фазы, ч; y – число генераций.

У производственных штаммов лейконостоков продолжительность лаг-фазы варьировала в пределах от 1 до 3,7 ч. Штаммы с минимальной продолжительностью лаг-фазы развития в молоке успевают совершить в течение выработки сыра 1,9 генерации, штаммы с максимальной продолжительностью лаг-фазы во время выработки сыра не размножаются. Следовательно, для того чтобы оказать влияние на качество сыра, они должны размножаться во время созревания сыра.

Максимальная температура для роста сливочного лейконостока ниже 37° С, некоторые штаммы молочного лейконостока растут при 38° С [1311].

Изучено развитие 9 штаммов *Str. paracitrovorus* в пастеризованном (74–75° С) молоке с сычужным порошком при температурном режиме, имитирующем режим выработки сыров с низкими температурами II нагревания (табл. 3.6) [1225]. В этом опыте в первые 2 ч инкубации при температуре 30–32° С, соответствующей температуре свертывания молока молокосвертывающими энзимами, из 9 штаммов лейконостоков только один повысил кислотность молока на 1° Т. На втором этапе культуры нагревали до 40–41° С и выдерживали при этой температуре 2 ч, что имитировало II нагревание во время выработки сыра. В конце этого этапа уже в двух культурах лейконостоков кислотность на 2° Т превышала исходную. На третьем этапе культуры выдерживались при комнатной температуре в течение 5 ч, что соответствует условиям самопрессования и прессования сыров. Температура среды к концу этапа снизилась до 25° С. Во всех культурах лейконостоков кислотность молока на этом этапе повышалась, и к концу этапа она на 1–10° Т превышала исходную. Следовательно, лейконостоки не погибают и не теряют активность при температурах II нагревания, характерных для производства мелких сычужных сыров. Устойчивость к температурам II нагревания в молоке с реннетом у лейконостоков выше, чем у лактококков, и поэтому при их повышении они могут стать преобладающими среди газообразующей микрофлоры сыров, вырабатываемых на закваске с диацетильным лактококком и лейконостоками [1055].

На третьем этапе культуры охлаждались до температуры 8–10° С, которая часто применяется в созревании сыров с низкими температурами II нагревания, и выдерживались при этой температуре 7 сут. Кислотность молока за этот период всеми штаммами была повышена, в т. ч. 33% на 10–40° Т. На основании этого опыта можно с высокой степенью достоверности предполагать способность лейконостоков размножаться в сыре при 8–10° С, хотя интенсивность их роста при этих температурах в значительной степени зависит от штамма.

Снижение температуры до 14° С – верхней границы созревания отечественных сыров с низкими температурами II нагревания – уменьшает удельную скорость роста лейконостоков по сравнению со скоростью роста при оптимальной температуре в 2,2–7,3 раза, при 10° С она снижается в 10 раз. Минимальная температура для роста лейконостоков,

по данным других авторов, зависит от штамма и при прочих оптимальных условиях равняется 4–10° С [500, 1311].

Лейконостоки в сырах с высокими температурами II нагревания роли не играют, потому что до II нагревания они не размножаются, а во время II нагревания большая часть их клеток погибает [1315].

Во время созревания сыра лейконостоки могут размножаться, пока есть лактоза. После прессования в сырах с низкой температурой II нагревания остается более 1% лактозы, что вполне достаточно для накопления лейконостоками количества газа требуемого для формирования характерного для этих сыров рисунка.

На рост лейконостоков может оказать сильное влияние активная кислотность среды. Влияние исходного pH среды на накопление биомассы лейконостоков показано на рис. 3.6. Лейконостоки активно размножались в широком диапазоне pH – от 4,8 до ~ 9,0. Наиболее активно накопление их биомассы шло при pH 5,6–6,5, что выше pH твердых сыров во время созревания. Выход биомассы при исходном pH 4,8 составлял 5–10% от ее выхода при pH 5,5. При активной кислотности, характерной для созревания мелких сычужных сыров (pH 5,2–5,4), накопление лейконостоками биомассы шло с достаточно высокой скоростью.

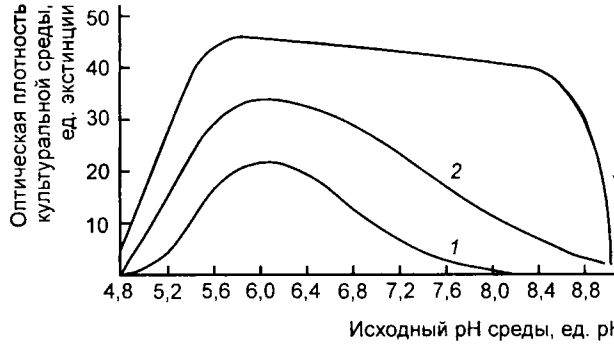


Рис. 3.6. *Влияние pH среды на рост лейконостоков в молочном гидролизованном бульоне (средние данные по 54 штаммам Leuc. cremoris и Leuc. lactis): 1 – время культивирования 24 ч; 2 – время культивирования 48 ч; 3 – время культивирования 168 ч*

Исследовано образование CO_2 диацетильным лактококком и лейконостоками. При росте в молоке экспоненциальная фаза развития лактококков заканчивается при увеличении содержания молочной кислоты на 0,5% (pH 4,5–4,85), рост прекращается при увеличении содержания кислоты на 0,6–0,7%, что происходит примерно через 11 ч инкубации при 30° С и 2 %-ной посевной дозе [179]. Утилизация цитратов диацетильным лактококком начинается с середины экспоненциальной фазы после увеличения содержания молочной кислоты более чем на 0,2% (pH

меньше 5,5) [628]. Позднее начало утилизации цитратов обусловлено тем, что цитрат пермеаза, осуществляющая перенос цитратов через клеточную мембрану, имеет низкий оптимальный pH [805].

В опытах А. Гудкова с соавт. в полусинтетической среде при оптимальных условиях скорость образования CO_2 диацетильным лактококком достигала максимума через 6 ч инкубации [1331]. Результаты этих исследований свидетельствуют о том, что диацетильный лактококк может начать образовывать газ при производстве сыров с низкими температурами II нагревания в конце выработки (прессования), а следовательно, основное образование им газа в сыре происходит во время посолки и на начальном этапе созревания.

Лейконостоки не размножаются во время выработки и могут образовывать газ во время созревания, когда температура и другие условия в сыре далеки от оптимальных, но не подавляют их рост [180, 1225].

На образование газа лактококками и лейконостоками в условиях, имитирующих условия в мелких сычужных сырах во время посолки и начале созревания, сильное влияние оказывает содержание цитратов [1331]. Снижение содержания цитратов в среде на 0,08% (с 0,17 до 0,09%) уменьшило количество образованного обоими видами газа в зависимости от штамма на 66–74%. Изменение содержания в среде лактозы с 1 до 0,1% не оказало влияния на образование газа диацетильным лактококком, но уменьшило его количество в культурах лейконостоков. Изменения pH в характерном для этого периода интервале от 5,7 до 5,2 не оказало влияния на газообразующую активность лактококка, уменьшив ее у лейконостоков.

Очень большое негативное влияние на образование газа лактококками и лейконостоками оказало снижение температуры с 14 до 10° С. Скорость образования CO_2 диацетильным лактококком, в зависимости от штамма, снижалась при понижении на 2° С температуры в этом интервале на 31–44%, при снижении содержания цитратов на 0,08% в диапазоне от 0,17 до 0,01% она снижалась на 77–80%. Таким образом, во время посолки и в начале созревания лимитирующими образование газа диацетильным лактококком факторами являются содержание цитратов и температура. Эти факторы вкупе с содержанием лактозы лимитируют также газообразование лейконостоками, но ингибирующий эффект их в отношении этих микроорганизмов менее выражен. При снижении в среде концентрации цитратов на 0,08%, температуры на 2° С, содержания лактозы на 0,45% (в диапазоне от 1 до 0,1%) скорость газообразования лейконостоками уменьшается соответственно на 54, 20 и 13%. Скорость образования газа диацетильным лактококком в условиях, характерных для начала созревания сыра, в 1,45 раза выше, чем у лейконостоков, что, очевидно, обусловлено их более быстрым ростом. Лактококки перестают образовывать газ в сыре после утилизации цитратов, лейконостоки – после утилизации цитратов и сбраживания лактозы. Общее количество образуемого лейконостоками CO_2 в сыре может значительно превышать его количество, образуемое диацетильным лактококком.

Образование рисунка различными видами газообразующей молочнокислой микрофлоры проверено непосредственно в сыре [1331]. Результаты этого опыта представлены в табл. 3.11. В сырах, выработанных с диацетильным лактококком, рисунок был более мелким, но более частым, чем в сырах, выработанных с лейконостоками; в сырах с закваскими, включающими оба вида газообразователей, увеличились и число, и диаметр глазков. Во всех сырах рисунок соответствовал предъявляемым к нему требованиям и получил высшую оценку. Таким образом, нормальный рисунок в сырах с низкими температурами II нагревания можно получить с закваскими, включающими из газообразующих молочнокислых бактерий диацетильный лактококк (D-закваски), лейконосток (В-, или Л-закваски) и оба эти вида газообразующих бактерий (BD-, или ДЛ-закваски).

3.11. Характеристика рисунка Костромского сыра, выработанного на закваскаx с различным составом газообразующей микрофлоры[1] (средние результаты по пяти повторностям)

Состав газообразующей микрофлоры	Число глазков	Диаметр глазков, мм	Площадь глазков, мм^2
Lc. lactis subsp. diacetylactis	19	6,0	550
Leuc. mesenteroides subsp. cremoris	11	6,9	440
Lc. diacetylactis + Leuc. cremoris	25	6,3	820

[1] Кислотообразующая микрофлора во всех закваскаx представлена молочным лактококком

Выработки сыров в предыдущем опыте проводились в экспериментальном цехе ВНИИМС с точным соблюдением технологических и гигиенических требований. В производственных условиях могут происходить отклонения от нормального хода процесса. Так, содержание цитратов в молоке изменяется по сезонам года [1530]. Максимальным оно бывает в июле (~ 2 г/л), минимальным – в октябре, ноябре и апреле (1,33–1,53 г/л). В периоды низкого содержания цитратов в молоке часто рисунок сыров бывает редким, что можно объяснить недостатком субстрата для образования газа диацетильным лактококком, обычно представляющим газообразующую микрофлору в отечественных закваскаx [1530].

Низкое содержание цитратов в молоке может быть следствием их утилизации микрофлорой молока до переработки на сыр, так как многие микроорганизмы ферментируют цитраты. Это может быть причиной отсутствия рисунка в сырах, вырабатываемых на D-закваскаx из молока с высокой бактериальной обсемененностью, в частности с повышенной кислотностью. В сырах, вырабатываемых на В- или BD-закваскаx, сезонные изменения в содержании цитратов в молоке не оказывают влияния на рисунок.

Рост лейконостоков зависит от содержания в среде марганца [1579]. Дефицит Mn в среде снижает выход биомассы сливочного лейконостока на 40,7%, оказывая незначительное влияние на развитие лактококков, за

исключением штаммов диацетильного лактококка с низкой кислотообразующей активностью в молоке (снижение выхода биомассы на 24,1%). Содержание Mn в молоке также зависит от сезона: в весеннем молоке среднее содержание Mn равно 23,9 мкг/кг (73% от его среднего содержания в осеннем молоке, что значительно ниже оптимального уровня для сбраживания цитратов лейконостоками (50 мкг/кг) [179, 1285]. Это приводит к менее интенсивному развитию лейконостоков и ухудшению рисунка в сырах, выработанных из весеннего молока на B-закваске [677]. BD-закваски весной могут превратиться в D-закваски, осенью – в B-закваски.

Рост лейконостоков в сырах прекращается после сбраживания лактозы. Чем больше остается лактозы в сырах после прессования, тем дольше продолжается развитие лейконостоков. При нормальной скорости сбраживания лактозы лейконостоки за время выработки и созревания сыра дают до 6 генераций [1331]. При избытке лактозы в сырах, например, в результате действия бактериофага на лактококки, лейконостоки могут вызвать раннее вспучивание сыра. Оно отличается от вспучивания, вызываемого бактериями группы кишечной палочки, тем, что вспученные сыры сохраняют вполне удовлетворительный вкус и аромат. Диацетильный стрептококк вспучивания твердых сыров не вызывает, так как содержание цитратов в сырной массе не бывает слишком высоким. Однако, при выработке кисломолочных сыров и творога высокое содержание в закваске диацетильного лактококка может привести к всплыванию сгустка вскоре после образования [929].

Бактериофаги лейконостоков менее распространены на сыродельных заводах, чем бактериофаги диацетильного лактококка (табл. 3.6). Это понятно, так как лейконостоки начинают размножаться после свертывания молока, когда условия для репродукции бактериофагов неблагоприятны. В связи с этим, B- и BD-закваски более стабильно обеспечивают формирование рисунка в сыре, чем D-закваски.

3.12. Влияние лейконостоков на балловую оценку и качество Костромского сыра [1754]

Показатели	Состав заквасок	
	Lc. lactis	*Lc. lactis+Leuconostoc*
Вкус и запах	35,6	37,8
Консистенция	22,9	23,7
Рисунок	6,6	7,6
Общая оценка	85,6	89,0

Лейконостоки оказывают сильное влияние не только на рисунок, но и на другие органолептические показатели сыров [1754]. Влияние их на качество Костромского сыра показано в табл. 3.12. Сыры, выработанные на лактококковых заквасках без газообразующих микроорганизмов, получили невысокую оценку. Введение в закваску лейконосто-

ков повысило оценку за вкус и запах на 2,2 балла, за консистенцию – на 0,8 балла, за рисунок – на 1 балл. Сыры с лейконостоками имели более высокое содержание летучих жирных кислот (в 2,1 раза), растворимых белков (на 16%), меньше пептидов (на 38,1%), более высокий pH (5,28 по сравнению с 5,19), чем контрольные сыры. Повышенное содержание летучих жирных кислот усилило выраженность сырного вкуса, более низкое содержание пептидов могло быть причиной того, что горечь была обнаружена только в 34% опытных сыров, а в контрольных – в 75%, слишком низкий pH контрольных сыров мог быть причиной более крошливой, менее связной их консистенции. В табл. 3.7. показано, что штаммы лейконостоков не дают горечи, что обусловлено особенностями их протеолитических систем (низким уровнем образования в молоке пептидов и способностью разрушать горькие пептиды, образуемые другими компонентами заквасок) [1753]. По характеру протеолиза в молоке они близки к диацетильному лактококку с низкой скоростью кислотообразования. Более высокое содержание летучих кислот и более высокий pH в сырах с лейконостоками является следствием сбраживания ими части лактозы гетероферментативным путем.

Сыры с закваскими, содержащими только молочный лактококк, не имели рисунка или имели отдельные рваные глазки, по-видимому, образованные бактериями группы кишечных палочек, которые, наряду с CO_2, образуют водород, плохо растворимый в сырной массе.

В других опытах средняя балловая оценка Голландского круглого и Костромского сыров, выработанных с закваскими без газообразующих бактерий, D-закваскими, B-закваскими и BD-закваскими, равнялась соответственно 85,6; 88,00; 89,3 и 90,1 балла [1753].

Таким образом, лейконостоки в производстве мелких сычужных сыров с правильным рисунком играют важную роль. Однако слишком интенсивное развитие лейконостоков в сыре может ухудшить его качество не только за счет образования переразвитого рисунка или вспучивания головок. Продукты гетероферментативного сбраживания лактозы, в частности этиловый спирт, могут образовывать эфиры с продуктами липолиза, обусловленного развитием в сырах психротрофов, вызывающие различные пороки вкуса и запаха. Наивысшую оценку получали сыры, в которых содержалось в период максимума $(2–4)\cdot10^8$ клеток/г лейконостоков, что обеспечивается внесением с закваской $(1–3)\cdot10^5$ клеток на 1 мл молока (с учетом 10-кратного увеличения концентрации клеток в сгустке в результате механического захвата их коагулирующим белком) [1201, 1331]. Следует, однако, учесть, что влияние лейконостоков на качество сыра в большой степени зависит от индивидуальных свойств штаммов.

Многие штаммы лейконостоков обладают выраженной специфической антибиотической активностью, в частности, по отношению к психротрофам при температуре 7° С [681].

По мнению Collins, диацетильный лактококк, с точки зрения образования вкуса и аромата сыра, непредсказуем и неустойчив, способен

вызвать в сырах порочный «йогуртный» или «зеленый» привкус за счет образования ацетальдегида [186]. В присутствии лейконостоков этот привкус не образуется, потому что лейконостоки трансформируют ацетальдегид в этанол.

Проведенный анализ не дает однозначного ответа на вопрос, какой вид мезофильных газообразующих молочнокислых бактерий лучше использовать для производства твердых сыров с низкими температурами II нагревания. Несомненные преимущества лейконостоков – устойчивость к бактериофагам, способность снижать опасность появления горечи и излишней кислотности в сырах, образовывать рисунок независимо от содержания цитратов в молоке. Среди лейконостоков часто обнаруживаются штаммы, обладающие специфической (обусловленной не только действием молочной кислоты) антагонистической активностью по отношению к посторонней микрофлоре [674, 681, 1052]. Недостатками лейконостоков являются низкая скорость роста и кислотообразования в молоке и способность вызывать пороки сыров при передозировке.

Несомненным достоинством диацетильного лактококка является более высокая скорость роста и кислотообразования в молоке, хотя из зарубежных заквасок чаще выделяются штаммы *Lc. diacetylactis* с низкой скоростью роста [929, 1431]. Эти штаммы в смешанной культуре со сливочным или молочным лактококком и в присутствии молокосвертывающих энзимов достаточно быстро размножаются, но, в отличие от активных по кислотообразованию штаммов, реже дают горечь.

В мировой практике применяют закваски всех трех типов: BD-, D- и B-закваски. По качеству сыра Гауда, вырабатываемого на этих заквасках, они располагались в следующем порядке: BD > D > B, однако различия были несущественны [338]. При выборе типа закваски нужно учитывать изменения качества молока по сезонам года и гигиенические условия производства, в частности фаговую ситуацию. Весной лучше использовать D- или BD-закваски, осенью и при загрязнении закваски бактериофагами – B- или BD-закваски. В BD-заквасках очень важно соотношение культур: диацетильного лактококка в них должно быть не более 15%, лейконостоков – около 5 [962].

Лейконостоки должны обязательно входить в закваски для производства сыра типа Рокфор для обеспечения пористости сырной массы, необходимой для развития в ней плесневых грибов [236]. Обогащение молока лейконостоками путем непосредственного внесения в молоко их концентрата уменьшило число сыров с замкнутой структурой, при наличии которой плесень не может размножиться до нужных для формирования требуемых органолептических показателей сыра количеств, с 22,6 до 1,7%. Пустоты в Рокфоре могут образовать дрожжи, но они дают побочные привкусы в сыре.

3.2.6. Термофильный стрептококк

Термофильный (теплостойкий) стрептококк является гомоферментативным молочнокислым микроорганизмом. Ранее его называли *Strep-*

tococcus thermophilus, в настоящее время в соответствии с результатами филогенетических исследований он получил название *Streptococcus salivaris subsp. thermophilus* [227]. *S. salivaris* – обитатель ротовой полости и глотки человека, причастен к кариесу, к которому термостойкий стрептококк не имеет отношения, тем не менее генетически это тесно родственные микроорганизмы. В то же время ДНК-ДНК гибридизация показала только слабое сходство термофильного стрептококка с лактококками [1777]. Фенотипические отличия термофильного стрептококка от других представителей кокковых форм молочнокислых бактерий приведены на рис. 3.1, отличия от лактококков – в табл. 3.4. От лактококков он прежде всего отличается повышенной устойчивостью к температуре, откуда и получил свое название. От лактококков (серологическая группа N), энтерококков (группа D) и *S. salivaris* (группа K) отличается отсутствием группового антигена, хотя, возможно, такой антиген существует [787]. По сравнению с энтерококками термофильный стрептококк очень чувствителен к внешним факторам, на чем основаны схемы его идентификации, однако в природе существуют микроорганизмы, близкие к термофильным стептококкам, но более устойчивые хотя бы к одному из внешних факторов. Среди культур, выделенных из сыра и йогурта и идентифицированных как термофильный стрептококк, они составляют 40% [787].

Клетки термофильного стрептококка (0,7–0,9 мкм) немного крупнее клеток лактококков, расположены парами и цепочками; в фазе экспоненциального роста преобладают длинные цепочки [6, 1446, 1448]. Для старых культур характерен полиморфизм, в них встречаются деформированные, иногда очень большие, продолговатые и веретенообразные клетки.

Термофильный стрептококк обладает низкой устойчивостью к внешним факторам, за исключением устойчивости к температуре [1446], поэтому не особенно широко распространен во внешней среде. В сыром молоке он по численности занимает первое место среди термостойкой микрофлоры [1682]. Способность клеток термостойкого стрептококка выживать во время тепловой обработки молока (65° С, 30 мин) [1446] и высокое содержание в сыром молоке обусловливают постоянное загрязнение пастеризованного молока термофильным стрептококком. Обладает высокой способностью к когезии к поверхностям из нержавеющей стали: через 2–4 ч контакта культуры с поверхностью к ней может прикрепиться до 10^7 КОЕ/см^2 термофильного стрептококка [595]. Покрытие пластин фосфатом кальция значительно, но не полностью предотвращает когезию его клеток.

Термофильный стрептококк размножается в пастеризаторе. После 6 ч непрерывной работы пастеризатора на пластинах в секции регенерации было больше 10^6 КОЕ/см^2, а в секции нагрева больше 10^4 КОЕ/см^2 термофильного стрептококка [257]. В молоке при выходе из пастеризатора с эффектом регенерации 89% после 7–8 ч работы насчитывается больше 10^6/мл клеток термостойкого стрептококка, а при дальнейшей

эксплуатации пастеризатора без мойки их число может достигнуть 10^9/мл [466]. Единственной особенностью выделенных из пастеризатора штаммов был их рост в средах, содержащих 3% соли (ранее считалось, что термофильный стрептококк не растет в средах с 2% соли) [462]. Чем сильнее сырое молоко обсеменено термостойким стрептококком, тем чаще нужно мыть пастеризатор для предотвращения размножения в нем термофильного стрептококка. Термизация молока способствует его загрязнению термостойким стрептококком.

Учитывая широкое применение термостойкого стрептококка в заквасках для производства кисломолочных продуктов и сыров, устойчивость к пастеризации молока, можно сделать вывод, что молокоперерабатывающие предприятия являются главной экологической нишей для термостойкого стрептококка. Термофильный стрептококк, благодаря резистентности к высоким температурам, нашел широкое применение в молочной промышленности: в производстве твердых сычужных сыров с высокими и средними температурами II нагревания и сыра Чеддер ускоренным способом, Моцарелла, Горгонзола, итальянских мягких сыров, созревающих с участием поверхностной плесени или слизи (Бель пазе, Толледжио, Крещенца), кисломолочных продуктов, вырабатываемых с участием термофильных лактобацилл. Изучение состава микрофлоры 10 естественных сывороточных заквасок, применяемых для производства сыра Проволоне в Италии, показало, что кокковые формы в них были почти исключительно представлены термофильным стрептококком [360]. В совместных культурах в молоке термофильный стрептококк стимулирует развитие пропионовокислых бактерий [841]. Введение термофильного стрептококка в закваски для производства сыров с чеддеризацией и плавлением сырной массы ускоряет чеддеризацию, протекающую при температуре 30–40° С [1289].

Исследования кислотообразующей активности 36 штаммов термофильного стрептококка в обезжиренном молоке при 20–60° С показали, что больше всего кислоты он образует в интервале от 39,3 до 46,1° С [697]. Растет при 50° С (это отличает его от *Str. salivaris subsp. salivaris*), но не растет при 53° С и при температурах ниже 18° С [1422]. Оптимальные температуры зависят от штамма: так, для одного штамма термофильного стрептококка максимальная скорость роста была при 38° С, а для кислотобразования – 48° С; внесение в культуру в конце лог-фазы соли полностью подавило его размножение, оказав незначительное влияние на кислотообразование [1622]. Встречаются штаммы термофильного стрептококка, которые при высокой посевной дозе (больше 10^6 КОЕ/мл) и длительной выдержке способны дать 1–2 генерации при 12° С [85].

Температуры II нагревания в производстве крупных твердых сыров находятся на уровне максимальной или несколько превышающей максимальную для роста термофильного стрептококка; минимальная для них температура выше температуры созревания для мелких твердых сыров; обработку зерна в производстве мелких сыров ведут при оптимальных температурах для развития этого вида.

Несмотря на то что и термофильный стрептококк, и лактококки являются гомоферментативными молочнокислыми бактериями, имеется важное отличие в сбраживании лактозы и галактозы этими микроорганизмами (3.2.3). Лактококки в условиях выработки сыра расщепляют лактозу на глюкозу и галактозу на клеточной мембране с одновременным переносом обоих сахаров внутрь клетки и параллельной их ферментацией внутри клетки, так что ни глюкоза, ни галактоза, образующиеся в результате гидролиза лактозы внутри клетки, во внешнюю среду не поступают [1092]. У части штаммов термофильного стрептококка лактоза, перенесенная в клетки, гидролизуется на глюкозу и галактозу, глюкоза сбраживается, а галактоза выходит обратно в среду. Только часть штаммов термофильного стрептококка сбраживает и глюкозу, и галактозу. Таким образом, штаммы термофильного стрептококка делятся на сбраживающие (Гал$^+$) и несбраживающие (Гал) галактозу [441, 443]. Гал штаммы встречаются чаще, чем Гал$^+$ [664].

Избыток в среде лактозы сильно тормозит сбраживание галактозы даже Гал$^+$ штаммами [441]. В среде с высоким содержанием лактозы все испытанные штаммы термофильного стрептококка использовали не больше половины галактозы, содержащейся в лактозе. При ограниченном содержании лактозы только один из шести испытанных штаммов термофильного стрептококка использовал всю галактозу, получаемую из лактозы [1097]. Эти особенности сбраживания лактозы свидетельствуют о худшей приспособленности к молоку термофильного стрептококка по сравнению с лактококками.

При производстве Чеддера ускоренным методом температуру II нагревания повышают до 43° С, а в закваску, кроме лактококков, вносят термофильный стрептококк [858]. В сырах, вырабатываемых этим методом, обнаруживают галактозу и лактозу, которых нет в сырах, вырабатываемых по традиционной технологии. Это опасно, так как может привести к развитию гетероферментативных лактобацилл, придающих сыру пороки вкуса и открытую структуру. Лактококки могут сбродить эти углеводы, хотя при низкой концентрации галактозы сливочный лактококк, обычно используемый для выработки Чеддера, сбраживает ее медленно [1092].

Загрязнение молока термофильным стрептококком при несвоевременной мойке пастеризатора приводит к появлению пороков в сыре Гауда: нечистый, неприятный вкус, щелевидный или сетчатый рисунок [466, 462]. Пороки обусловлены сбраживанием галактозы самим теплостойким стрептококком, что возможно в начале созревания, пока температура в головках сыра не понизилась до уровня, при котором прекращается рост этого вида, или другой, посторонней микрофлорой. В Нидерландах содержание термофильного стрептококка в сырах с низкими температурами II нагревания нормируется: в 2-недельных сырах с высокой гигиеной производств их число не должно превышать 10^7 КОЕ/г, при наличии больше 10^7 КОЕ/г термофильного стрептококка в сырах появляются пороки вкуса и рисунка [783].

Несмотря на свои недостатки как биотрансформатора лактозы, термофильный стрептококк в составе закваски улучшает качество сыров с высокими температурами II нагревания [1379]. Важно, что во время выработки этих сыров он растет быстрее, чем термофильные лактобациллы: его популяция достигает максимума через 5 ч прессования, популяция *Lbc. helveticus* – через 15–20 ч [7].

Многие штаммы термофильного стрептококка свертывают молоко с образованием вязких, иногда тягучих сгустков [1446]. Очевидно, это связано с их способностью образовывать в молоке полисахарид, в состав которого входит галактоза и глюкоза, а также небольшие количества ксилозы, арабинозы, рамнозы и маннозы [155]. Благодаря этой способности, термофильный стрептококк часто используют в составе заквасок для кисломолочных продуктов для улучшения консистенции. Добавление термофильного стрептококка к лактококковой закваске в соотношении 1:1 позволило увеличить содержание сухих веществ в твороге с 22 до 25–27% [1365].

Таким образом, термофильный стрептококк играет в сыроделии двойную роль: с одной стороны, он входит в состав необходимой микрофлоры для производства сыров с высокими и средними температурами II нагревания, в которых сбраживает значительную часть лактозы с образованием L(+)-молочной кислоты, легче всего усваиваемой пропионовокислыми бактериями, а также в состав заквасок для некоторых кисломолочных сыров; с другой стороны, он является технически вредным микроорганизмом для сыров с низкими температурами II нагревания.

3.2.7. Педиококки

Педиококки – кокковые гомоферментативные молочнокислые бактерии, отличающиеся от остальных молочнокислых бактерий тем, что делятся в двух плоскостях с образованием тетрад (рис. 3.1). Встречаются в парах и тетрадах. Факультативные анаэробы, рост некоторых штаммов на воздухе не происходит. Классификация по филогенетическим признакам относит их к лактобациллам и лейконостокам, что не совпадает с их классификацией по морфологическим признакам [227, 1005]. В определителе Берджи [1552] выделено восемь видов педиококков, для сыроделия представляют интерес только два из них: *Ped. pentosaceus* и *Ped. acidilactici*, дифференциальные характеристики которых приведены в табл. 3.13.

Оптимальные температуры для *Ped. acidilactici* и *Ped. pentosaceus* равны 40 и 35° С, максимальные – 55 и 42–45° С; оба вида растут при 45° С и в среде с 8% NaCl, pH глюкозного бульона снижают до 3,5–3,8 [342, 653, 1073]. Часть клеток педиококков выдерживает пастеризацию молока, принятую в сыроделии [653].

Педиококки обнаруживают в сброженных растительных массах (силосе, квашеной капусте), пиве; они обычно присутствуют в сырах, начиная размножаться с 4-недельного возраста, а иногда много позднее, и дос-

тигают количества 10^7–10^8 КОЕ/г [609, 653]. В Чеддере они могут по численности занимать третье место после лактококков и лактобацилл, а на конечных стадиях созревания – первое [206]. Образуют ацетат из лактатов, растут на продуктах автолиза микрофлоры закваски [1114], что объясняет их длительное развитие в сырах. Завоеванию педиококками в сырах экологической ниши способствует их высокая устойчивость к активной кислотности и поваренной соли. В сырах растут на протяжении 90 сут созревания. Роль в сыроделии не выяснена. Ранее высказывались мнения о причастности педиококков к формированию вкуса сыра, однако опыты с выработками сыров в асептической ванне это не подтвердили [331, 609]. При высоком содержании педиококков в сыре это выглядит более чем странно. Возможно, их влияние на органолептические показатели сыров по характеру полностью совпадает с влиянием лактококков.

3.13. Дифференциальные характеристики Ped. pentosaceus и Ped. acidilactici [227, 1552]

Показатели	*Ped. pentosaceus*	*Ped. acidilactici*
Рост при 35° С	+	+
40° С	+	+
50° С	–	+
Рост при pH 4,2	+	+
pH 7,5	+	+
pH 8,5	d	d
Рост в средах с:		
4% NaCl	+	+
6,5% NaCl	+	+
10% NaCl	–	–
Гидролиз аргинина	+	+
Кислота:		
из арабинозы	+	d
ксилозы	d	+
мальтозы	+	–
трегалозы	+	d
G+C мол.%	35–39	38–44

Примечание: d – у 11–89% штаммов слабая положительная реакция

Педиококки совместно с лактобациллами трансформируют L(+)-лактаты в D(–)-лактаты, в результате чего в сырах с достаточно продолжительным созреванием молочная кислота представлена в основном в DL-форме. Это несколько снижает качество сыра, так как D(–)-лактаты медленнее усваиваются организмом, чем L(+)-лактаты [1088]. Возможно, это одна из причин редкого позднего вспучивания крупных сыров с высоким

содержанием педиококков, так как интенсивность сбраживания лактатов бактериями зависит от типа изомера [197].

Включение педиококков в состав заквасок интенсифицирует протеолиз, не оказывая заметного влияния на органолептические показатели сыров. Способность педиококков размножаться при 45–55° С позволяет при их использовании как закваски повысить температуру II нагревания, что интенсифицирует обсушку зерна, в значительной степени ингибирует рост многих возбудителей порчи сыра во время его выработки и в какой-то степени стабилизирует молочнокислый процесс, так как педиококки малочувствительны к бактериофагам. К сожалению, педиококки медленно сбраживают лактозу [1056, 1073].

Отношения педиококков с лактококками и лактобациллами в 90% случаев были индифферентными, в остальных антагонистическими [26]. Следует отметить, что педиококки являются слабо изученной группой молочнокислых бактерий, а в отечественных сырах их развитие и роль совершенно не изучены.

3.2.8. Энтерококки и стрептококки серологической группы D

Энтерококки являются гомоферментативными молочнокислыми бактериями. Несмотря на это, в системах классификации их всегда отделяют от лактококков, образующих серологическую группу N, и термофильного стрептококка, не имеющего специфического антигена, поскольку между ними есть важные фенотипические отличия, а филогенетическое родство недостаточно тесное.

Клетки энтерококков сферические или овальные, 0,6–2,0×0,6–2,5 мкм, расположены в парах или коротких цепочках. Сбраживают углеводы с образованием в основном L(+)-молочной кислоты без образования газа, снижают pH среды до 4,2–4,6. Типовой вид *Enterococcus faecalis* [1552]. В 9-ом издании определителя бактерий Берджи в род *Enterococcus* включено 16 видов. Главные отличия энтерококков от других коккообразных молочнокислых бактерий показаны на рис. 3.1. Они прежде всего связаны с их высокой устойчивостью к внешним факторам: температуре, концентрации соли, желчи, высокому pH. Дифференцирующие свойства энтерококков и стрептококков группы D приведены в табл. 3.14. К энтерококкам относят *E. faecalis, E. faecium, E. durans* и *E. avium*. В прежних классификациях у *E. faecalis* выделяли подвид *E. faecalis var. liquefaciens*, отличающийся способностью разжижать желатин и свертывать молоко с пептонизацией образующегося сгустка. Второй подвид фекального энтерококка – *E. faecalis var. zymogenes* – вызывает *β*-гемолиз на кровяном агаре, часть его штаммов разжижает желатин и пептонизирует сгусток молока. Более подробно идентификация энтерококков описана Королевой и Семенихиной [1062].

Стрептококки серологической группы D отличаются от энтерококков неспособностью расти при 10° С и в бульоне с 6,5% соли и рядом

других свойств, главные из них отражены в табл. 3.14. Энтерококки могут расти в анаэробных условиях на пируватах и цитратах; из пируватов они образуют лактаты, ацетаты, CO_2, ацетоин + диацетил. Растут при 7° С.

***3.14. Дифференциальные характеристики энтерококков и стрептококков группы D* [299, 1552]**

Признаки	Энтерококки				Стрептококки	
	faecalis	*faecium*	*durans*	*avium*	*bovis*	*equinus*
Подвижность	(–)	(–)	–	–		
Рост при 10° С	+	+		+	–	–
45° С	+	+	+	+	d	+
50° С	(–)	(+)	–	–		
Рост в среде с 6,5% NaCl	+	+	+	+	–	–
0,04% теллурита	+	–	+	–		
0,01 тетразолия	+	–	–			
Рост в молоке с 0,1% метиленовой сини	+	–	+	d	–	–
Гидролиз аргинина	+	+	+	–	–	–
Кислота из рамнозы	d	–	–	+		
сахарозы	+	d	–	+		
лактозы	+	+	+	+	+	–
мелибиозы	–	d	–	–		
рафинозы	–	–	–	–		(–)
мелицитозы	(+)	–	–	–		
глицерола	+	+	–	+	–	
сорбитола	(+)	–	–	+	d	–
маннитола	(+)	–	–	+	d	–

Примечания: (+) – 80–89% положительны;
d – 21–79% положительны;
(–) – 10–20% положительны.

Следует отметить, что только 73% свежевыделяемых из природных источников культур энтерококков и стрептококков группы D имеют типичные физиологические характеристики, 20% отличаются по одному какому-либо показателю, а 7% невозможно идентифицировать до вида [299].

Природной средой обитания этой группы является кишечник человека и животных: для *E. faecalis* – чаще всего человека, иногда птиц; *E. faecium* обитает в кишечнике человека, свиней, крупного и мелкого рогатого скота, птиц и рыб; *S. bovis* – в кишечнике крупного рогатого скота; *S. equinus* – в кишечнике лошадей [299]. Таким образом, стрептококки группы D также являются кишечными кокками и отделяют их от энтерококков

не из-за различий в среде обитания, а на основе других фенотипических признаков.

Энтерококки – условно патогенные микроорганизмы. Примерно 20% неострых бактериальных эндокардитов и 10% инфекций мочеполового тракта вызываются стрептококками группы D [299].

Возможную роль энтерококков как возбудителей пищевых заболеваний изучала Седова [1653]. Ей удалось вызвать легкое нарушение стула у 0,8% добровольцев, которые в течение 10 мес ежедневно потребляли по 100 г молока, сквашенного чистыми культурами *E. faecalis*, *E. faecalis var. liquefaciens* и *E. faecalis var. zymogenes*, *E. faecium* и *E. faecium var. durans*. Содержание клеток энтерококков в простокваше равнялось примерно 10^8/мл. Слабую энтеропатогенность в опыте показали все штаммы *E. faecium var. liquefaciens* и в 0,8% случаев *E. faecium*. Симптомы заболевания: учащающийся жидкий стул, легкие боли при дефекации; рвота и повышение температуры не отмечались ни разу. Заболевание протекало по типу токсикоинфекции – оно не возникало при скармливании добровольцам стерильных фильтратов культуральной жидкости энтерококков.

В то же время потребление сквашенного энтерококками молока оказало положительное влияние на работу кишечника многих добровольцев. Этого следовало ожидать, так как энтерококки являются составной частью нормальной кишечной микрофлоры здоровых людей и их количество в фекалиях достигает 10^8 КОЕ/г. В опыте была очень высокой доза ежедневного приема клеток энтерококков – 10^{10} клеток. Для того чтобы такое количество клеток энтерококков попадало в организм вместе с твердым сыром, его нужно ежедневно употреблять в количестве 1–10 кг.

Описана вспышка токсикоинфекции, возникшая в результате употребления сыра, в котором обнаружили *E. faecium* [143]. Однако сам факт присутствия энтерококков в сыре, вызвавшем заболевание, нельзя рассматривать как доказательство их участия в инфекции, поскольку энтерококки есть в любом сыре. Присутствие энтерококков еще не означает их участие в инфекционном процессе.

Энтеропатогенность энтерококков служила поводом для оживленных дискуссий в течение многих лет. Очень точным признаком энтеропатогенности у стафилококков является образование ими энзима – теплостойкой ДНКазы, которую при наличии реактивов не очень сложно определить. Поскольку стафилококки и энтерококки являются хотя и дальними, но родственниками, проверили способность энтерококков образовывать подобный энзим (ТДНКазу). Из 130 проверенных штаммов *E. faecalis* способностью образовывать ТДНКазу обладали 30 штаммов, два из них образовывали энтеротоксины [1700]. Дальнейшие исследования 810 культур энтерококков, выделенных из молочных продуктов и других источников, выявило 32 культуры энтерококков, образующих ТДНКазу, 13 из которых оказались токсигенными [55, 56]. Результаты этих опытов согласуются с полученными Седовой [1653]. Из опытов Седовой следует, что

энтеротоксин, образуемый некоторыми штаммами энтерококков, обладает слабой вирулентностью и проявляет свое действие при поступлении в организм очень большой массы жизнеспособных клеток энтерококков. Кроме этого, он был образован энтерококками в оптимальных для их развития условиях, которых нет в сырах. Эти опыты не могут подвергнуть сомнению безвредность сыров, в которых всегда есть определенное количество энтерококков, проверенную человечеством тысячелетиями.

Энтерококки могут образовывать в сырах токсичные амины. Исследование энтерококков, выделенных из 64 сыров из козьего молока фермерского производства, показало, что из них образовывали гистамин 41 (31,5%) штамм *E. faecium* и 2 (1,9%) штамма *E. faecalis* [1079]. Если в опытных сырах Чеддер, выработанных на обычной лактококковой закваске, количество тирамина составляло 4–87 мкг/г, то в сырах, выработанных на закваске *E. faecalis*, 333–1397 мкг/г [208]. В сырах промышленных выработок содержание тирамина находилось в интервале от 25 до 1199 мкг/г. Сыры Чеддер по сравнению с другими сырами имеют более высокое содержание гистамина и тирамина, что может быть обусловлено повышенным количеством в них энтерококков из-за равномерного распределения соли в сырной массе уже в процессе выработки, что тормозит рост других молочнокислых бактерий, а также из-за продолжительного созревания этого сыра. Однако и в них количество гистамина и тирамина опасности для здоровья не представляет (гл. 13). В литературе описаны лишь единичные, быстро проходящие заболевания, связанные с потреблением лицами пожилого возраста очень старых сыров с высоким содержанием аминов.

Энтерококки практически всегда присутствуют в сыром и пастеризованном при 71–72° С в течение 20 с молоке. В сыром молоке их количество колеблется от сотен до сотен тысяч клеток в мл, т. е. в очень широких пределах, в пастеризованном молоке Семенихина обнаруживала в среднем около 240 КОЕ/мл энтерококков [1654]. *E. faecalis* составлял от общего количества энтерококков в сыром молоке 93,4, в пастеризованном молоке – 89,7%.

Das et al. обнаружили в свежевыдоенном сыром молоке в среднем 620, в пастеризованном 170 и сыром рыночном молоке свыше 2 млн. клеток энтерококков в 1 мл [219]. Из 62 выделенных ими энтерококков 28 было идентифицировано как *E. faecalis*, 4 – *E. faecalis subsp. liquefaciens*, 12 – *E. faecium*, 12 – *E. durans*, 6 обладали промежуточными свойствами. Из 32 культур *E. faecalis* 6 образовывали ТДНКазу и токсин.

Из стрептококков группы D по частоте обнаружения в пастеризованном молоке на первом месте стоит *S. bovis*. В летнем сыром молоке содержалось в 9 раз больше энтерококков, чем в зимнем. По данным Семенихиной, пастеризацию при 72° С выдерживает 0,6% энтерококков, присутствующих в сыром молоке [1654]. Отсутствует корреляция между содержанием в сыром молоке бактерий группы кишечных палочек и энтерококков, что может быть обусловлено различными путями попадания их в молоко и неодинаковой скоростью роста в молоке.

В опытах Dahlberg & Kosikowski при выработке Чеддера из пастеризованного молока в однодневном сыре было около 300 клеток/мл энтерококков, к 120-дневному возрасту их количество увеличилось до $(23–28)\cdot10^6$/г, затем начало постепенно снижаться [576]. В молодом Чеддере содержание энтерококков может достигать 56% от общего содержания бактерий [252, 542]. Из выделенных из молодого сыра Чеддер энтерококков 60% отнесены к *E. durans*, 27% – к *E. faecalis* и 10% – к *E. faecalis var. liquefaciens*.

В Советском сыре энтерококки достигали максимума в конце выдержки сыра в теплой камере: летом максимальное их количество равнялось $1{,}1\cdot10^6$, минимальное – $4\cdot10^3$, зимой оно не превышало 10^7 в 1 г [1315]. В Российском сыре максимальное количество энтерококков наблюдалось в 30-суточном возрасте (при максимуме общего содержания бактерий примерно в 5-суточном), и оно равнялось $2\cdot10^7$ КОЕ/г [1717]. В сыре Камамбер максимальное количество энтерококков равнялось 10^7 КОЕ/г [1699]. Kielwein обнаружил энтерококки в 59% высококачественных и 92% низкокачественных сыров [541].

Благодаря более высокой термостойкости энтерококки занимают ведущее место в микрофлоре сыров с чеддеризацией и плавлением сырной массы. В стрептококковой микрофлоре сыра Качкавал 4% принадлежит лактококкам, 14% – термофильному стрептококку, 70% – энтерококкам и 12% – штаммам с промежуточными свойствами [1440].

Таким образом, в сырах количество энтерококков находится в пределах 10^6 – 10^7/г , что составляет примерно 0,06% от содержания в сыре микроорганизмов закваски в период максимума. Оно больше в Чеддере и может быть значительно больше в рассольных сырах, т. е. там, где в сырной массе в процессе или сразу после выработки создаются высокие концентрации соли [1119].

Способность энтерококков размножаться при повышенных и достаточно низких (до 7° С) температурах, в средах с высокими концентрациями соли представляет необычайный интерес для сыроделия, в частности, при их использовании для интенсификации процессов синерезиса за счет повышения температуры II нагревания, увеличения степени посолки в зерне и сокращения продолжительности посолки в рассоле или полного отказа от посолки в рассоле. В связи с этим в 50–70 гг. появилось множество работ, обосновывающих возможность и целесообразность включения энтерококков в состав заквасок для сыров, особенно для производства Чеддера, Российского, сыров с высокой температурой II нагревания и рассольных сыров. В настоящее время в связи с установлением способности некоторых штаммов энтерококков образовывать токсины, эти предложения стали несостоятельными даже в присутствии диких штаммов энтерококков в сырах и при отсутствии энтерококковых отравлений ими. Использование энтерококков в составе заквасок увеличивает в сотни раз численность энтерококков в сыре и сдвигает на более раннюю стадию наступление максимума их развития, когда условия для образования ток-

синов могут быть более благоприятными [576, 1699]. Следует однако отметить, что некоторые штаммы *E. faecium* образуют антибиотические вещества, ингибирующие рост *List. monocytogenes* [316].

Поскольку основной средой обитания энтерококков является кишечник, обнаружение энтерококков в объектах внешней среды некоторые считают показателем загрязнения этих объектов фекалиями и патогенными микроорганизмами. Использование энтерококков как санитарно-показательных организмов привлекает внимание многих ученых [1234]. Однако на сыродельных предприятиях энтерококки не могут выполнять эту функцию. Энтерококки на молочных предприятиях являются постоянными обитателями. Из 515 исследованных объектов на молочных предприятиях энтерококки были обнаружены в 391 (76%) [542]. Особенно много их было в ферментированных молочных продуктах, в т. ч. в сырах, и в молочном камне.

Количество энтерококков в сырах зависит от гигиены их производства, включая соблюдение гигиенических требований к исходному молоку и технологического режима, в частности скорости молочнокислого процесса во время выработки и на первых этапах созревания сыра. Чем быстрее будет сброжена лактоза в сыре, тем раньше прекратится размножение энтерококков, тем меньше их будет в продукте. Исходное содержание энтерококков в сыром молоке тоже в большой степени зависит не от гигиены его получения, а от температуры и продолжительности хранения, а в пастеризованном молоке также от режима пастеризации и соблюдения правил эксплуатации пастеризатора. Можно с полной уверенностью утверждать, что содержание энтерококков в сыре в большей степени зависит от технологии, чем от гигиены, и поэтому оно не может быть показателем фекального загрязнения. Энтерококки в сыре следует рассматривать как *индикаторные микроорганизмы*, характеризующие соблюдение и гигиенических, и технологических условий производства сыра, степень опасности его загрязнения посторонней, включая патогенную, микрофлорой. Этим они отличаются от так называемых *индексных микроорганизмов*, свидетельствующих о возможном загрязнении продукта патогенными бактериями. Понятие «индикаторных» микроорганизмов гораздо шире понятия «индексных» [1009]. Большинство авторов считает, что энтерококки в тех количествах, в которых они обычно находятся в сырах, не оказывают влияния на его органолептические показатели, чего и следует ожидать, учитывая гомоферментативный характер вызываемого ими молочнокислого брожения и их невысокое содержание. Это подтвердили выработки сыров в асептической ванне [609].

Высокое содержание энтерококков в так называемых сывороточных заквасках (сыворотка от предыдущих выработок сыра), широко применяемых в Италии, оказывает отрицательное влияние на качество сыров [1240].

В ранней литературе было широко распространено мнение о том, что горечь в сырах часто вызывают маммококки [1256, 1431]. Сейчас

микроорганизма с таким названием нет. Судя по описанию, это *E. faecalis var. liquefaciens* [1234]. Коноплева сумела воспроизвести этот порок, добавляя в молоко после пастеризации до 10^4/мл клеток «маммококка» в том случае, если pH сыра после прессования равнялся 6,23–6,35. При добавлении клеток в молоко до пастеризации или при pH сыра после прессования 5,5 (нормальный уровень для мелких сыров) порок не возникал. Условия в опыте, воспроизводившие порок, соответствуют выработке сыра из сырого молока при практически полной потере активности закваски, когда маммококк мог размножаться как в чистой культуре, и поэтому опыт нельзя признать корректным. Естественно, результаты его не нашли подтверждения. Конечно, *E. faecalis var. liquefaciens* может вызвать горечь в сырах, но только при грубых нарушениях технологии.

По-видимому, *E. faecalis var. liquefaciens* может стать причиной появления горького вкуса в сыре, если обсемененное им молоко будет созревать в термизованном виде без дополнительной тепловой обработки после созревания.

Обнаружено более высокое содержание энтерококков во вспученном Эмментальском сыре: в сырах нормального качества их среднее содержание равнялось $2{,}1 \cdot 10^3$ КОЕ/г, во вспученных сырах – $(2–72) \cdot 10^6$ КОЕ/г [543, 595]. Была высказана гипотеза, объясняющая причины вспучивания сыров декарбоксилированием энтерококками тирозина и аргинина, которые не были найдены во вспученных сырах [595]. Для ее доказательства были выработаны сыры из молока с добавлением вместе с обычной закваской $25 \cdot 10^3$ /мл фекального энтерококка. Энтерококк размножался в сыре после окончания молочнокислого брожения и в 60-суточном возрасте его количество в сыре равнялось $2{,}2 \cdot 10^8$ КОЕ/г. В опытных сырах не было аргинина и было очень мало тирозина, которые были в достаточных количествах в контрольных сырах, но было много орнитина – продукта декарбоксилирования аргинина. Опытные сыры имели нечистый вкус, рваный рисунок, но не были вспучены. Таким образом, вспучивание не произошло даже при содержании в Эмментальском сыре в сотни раз больших количеств *E. faecalis*, чем обнаруживалось во вспученных сырах промышленных выработок. В этих опытах не получила подтверждение и вторая гипотеза, по которой энтерококки способствуют вспучиванию Эмментальского сыра путем стимулирования роста пропионовокислых бактерий [543], так как пропионовокислые бактерии нормально размножались в опытных и контрольных сырах. Очевидно, повышенное количество энтерококков во вспученных сырах – индикатор нарушений гигиенического или технологического режима производства этих сыров, скорее всего, низкой скорости молочнокислого процесса.

В зарубежных сырах с высокой температурой II нагревания, вырабатываемых из пастеризованного при 73,3° С в течение 18 с молока, иногда наблюдается появление «белых пятен». Порок называют «белые пятна», или «белая гниль». Консистенция сырной массы в зоне белых пятен мажущаяся, вкус горький, глазки не образуются, из микрофлоры в

ней преобладают клетки *E. faecalis var. liquefaciens*. Снижение температуры тепловой обработки до 64,5° С предотвращает появление порока. Напрашивается вывод, что порок вызывают энтерококки, которым пастеризация молока создала условия для более интенсивного развития, например, путем уничтожения «диких» штаммов молочнокислых палочек, активно размножающихся и утилизирующих углеводы в сыре [763]. Такое предположение вполне логично, но оно требует дальнейших доказательств. Ранее появление порока «белая гниль» связывали с развитием протеолитических видов споровых анаэробов.

Энтерококки могут получать энергию из аминокислот, в частности, *E. faecalis* ферментирует аргинин с образованием орнитина, CO_2 и NH_3 [595].

Таким образом, энтерококки следует рассматривать как нежелательную в сыроделии микрофлору, ухудшающую гигиенические показатели сыров. Лимитирующими их развитие в сырах факторами являются снижение загрязнения ими сырого молока и высокая скорость молочнокислого брожения во время выработки и на первых стадиях созревания сыра. Включение энтерококков в состав бактериальных препаратов или заквасок для производства сыров недопустимо.

3.2.9. Лактобациллы

Клетки лактобацилл имеют размеры 0,5–1,2×1,0–10 мкм. Как правило, длинные, но иногда почти кокковидные, обычно в коротких цепочках. В редких случаях подвижные. Факультативные анаэробы, иногда микроаэрофилы; лучше растут при пониженном содержании кислорода. Рост обычно стимулируется 5% CO_2 [1552]. Типовой вид *Lactobacillus delbrueckii*.

По характеру вызываемого ими брожения лактобациллы можно разделить на три группы [227].

Группа 1. Облигатные гомоферментативные микроорганизмы. Сбраживают гексозы почти исключительно до молочной кислоты, пентозы и глюконат не сбраживают. CO_2 не образуют. Из наиболее важных для сыроделия видов лактобацилл к этой группе принадлежат две подгруппы, сформированные на основе генетического родства: подгруппа *Lbc. delbrueckii* с подвидами *delbrueckii, lactis* и *bulgaricus* (далее *Lbc. debrueckii, Lbc. lactis* и *Lbc. bulgaricus*) и подгруппа *Lbc. helveticus* и *Lbc. acidophilus*.

Группа 2. Факультативные гетероферментативные микроорганизмы. Представители этой группы сбраживают гексозы по гомоферментативному пути, а пентозы по гетероферментативному с образованием молочной и уксусной кислот. К этой группе из важнейших для сыроделия микроорганизмов принадлежит *Lbc. casei* с подвидами.

Группа 3. Облигатные гетероферментативные лактобациллы. Представители этой группы сбраживают гексозы до молочной и уксусной кислот (или этанола) и CO_2. В эту группу входят *Lbc. brevis* и *Lbc. fermentum*, часто встречающиеся в сырах.

В сыроделии находит применение *Lbc. plantarum*; этот вид по характеру метаболизма и фенотипическим характеристикам должен входить во вторую группу, а генетически он тесно родственен *Lbc. brevis*.

Среда обитания

Дифференциальные характеристики наиболее важных для сыроделия видов лактобацилл приведены в табл. 3.15, 3.16 и 3.17 [6, 227, 955, 1422, 1552].

3.15. Дифференциальные характеристики Lbc. casei и Lbc. plantarum[1)]

Показатели	*Lbc. casei subsp.*			*Lbc. plantarum*
	casei	*rhamnosus*	*tolerans*	
Тип молочной кислоты	L	L	L	DL
Рост при 45° С	–	+	–	±
Сбраживание:				
амигдалин	+	+	–	+
арабиноза	–	м[2)]	–	м
целлобиоза	+	+	–	+
эскулин	+	+	+	+
галактоза	+	+	+	+
глюконат	+	+	+	+
лактоза	м	+	+	+
мальтоза	+	+	–	+
маннитол	+	+	–	+
манноза	+	+	–	+
мелицитоза	+	+	–	+
мелибиоза	–	–	–	+
рафиноза	–	–	–	+
рамноза	–	+	–	–
рибоза	+	+	–	+
салицин	+	+	–	+
сорбитол	+	+	–	+
сахароза	+	+	–	+
трегалоза	+	+	–	+
ксилоза	–	–	–	±

[1)] Все штаммы растут при 15° С, не образуют аммиак из аргинина, G+C = 35–47 мол. %.

[2)] «м» – у (10–89)% штаммов реакция положительна, «–» – реакция слабая.

Лактобациллы отличаются очень сложными питательными потребностями и поэтому могут жить только в субстратах, богатых органическими питательными веществами: растворимыми углеводами, продуктами протеолиза (низкомолекулярными пептидами, свободными аминокислотами), жирными кислотами, витаминами, производными нуклеиновых

кислот. Вторым их требованием к среде обитания является низкое содержание в среде кислорода или его отсутствие. Таких мест в природе не так много. Наиболее массивными источниками лактобацилл являются силос, кишечник млекопитающих, хотя их доля в кишечной микрофлоре невелика (10^4–10^9 КОЕ/г при общем содержании бактерий 10^{10}–10^{11} КОЕ/г), молочные предприятия, где лактобациллы применяются в производстве большинства ферментированных продуктов. Несмотря на это, в небольших количествах лактобациллы обнаруживаются повсеместно, чему способствует их устойчивость к внешним факторам, в частности к pH, у многих видов – к осмотическому давлению, способность размножаться в широком диапазоне температур и высокая антагонистическая активность по отношению к другой микрофлоре [397].

3.16. Дифференциальные характеристики гомоферментативных термофильных лактобацилл

Показатели	*Lbc. delbrueckii subsp.*			*Lbc. helveticus*	*Lbc. acidophilus*
	delbrueckii	*lactis*	*bulgaricus*		
(G+C), мол. %	49–51	49–51	49–51	38–40	34–37
Тип молочной кислоты	D	D	D	DL	DL
Наличие гранул	–	–	+	–	–
NH_3 из аргинина	м	м	–	–	–
% мол. к-ты в молоке	1,5	1,7	2,7	0,8	
Сбраживание [1]					
амигдалин	–	–	–	–	+
целлобиоза	м	м	–	–	+
эскулин	–	+	–	–	+
галактоза	–	м	–	+	+
лактоза	–	+	+	+	+
мальтоза	м	+	–	м	+
манноза	+	+	–	м	+
мелибиоза	–	–	–	–	м
рафиноза	–	–	–	–	м
рибоза	–	+	–	–	+
сахароза	+	+	–	–	+
трегалоза	м	+	–	м	м

[1] Ни один вид не сбраживает арабинозу, глюконат, маннитол, мелицитозу, рамнозу, салицин, сорбитол, ксилозу, не растет при 15° С.

[2] «м» – у (10–89)% штаммов реакция положительна, «–» – реакция слабая.

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 до 50 клеток/мл лактобацилл, что намного меньше, чем других групп молочно-

кислых бактерий или соизмеримо с их количеством [955]. В сыром сборном молоке при поступлении на молочные заводы обычно содержится от 10^3 до $2 \cdot 10^4$ клеток/мл лактобацилл, но летом их количество может достигать до 10^5/мл [361, 955]. В сыром молоке доминируют *Lbc. casei* и *Lbc. plantarum*, изредка встречаются *Lbc. brevis*, *Lbc. fermentum* и другие виды. Количество термофильных лактобацилл в сборном молоке составляет 30–50 клеток/мл [573].

3.17. Дифференциальные характеристики гетероферментативных лактобацилл

Показатели	*Lbc. brevis*	*Lbc. fermentum*
(G+C), мол. %	44–47	52–54
Рост: при 15° С	+	–
при 45° С	–	+
Тип молочной кислоты	DL	DL
NH_3 из аргинина	+	+
Сбраживание [1]		
арабиноза	+	м
целлобиоза	–	м
эскулин	м	–
галактоза	м	+
лактоза	м	+
манноза	–	м
рафиноза	м	+
сахароза	м	+
трегалоза	–	м

Оба вида сбраживали глюконат, мальтозу, рибозу и не сбраживали амигдалин, маннитол, мелицитозу, рамнозу, сорбитол.

Лактобациллы обнаруживаются в любом сыре, независимо от их наличия в закваскаx. Основным источником обсеменения лактобациллами сыров, вырабатываемых на лактококковых закваскаx, является внешняя среда на самом заводе.

Мезофильные лактобациллы

Рост в молоке и сыре. К мезофильным относят лактобациллы, которые растут при 15° С и обычно не растут при 45° С (рис. 3.2). К гомоферментативным или факультативным гетероферментативным видам принадлежат *Lbc. casei* с подвидами и *Lbc. plantarum*, к гетероферментативным – *Lbc. brevis* и *Lbc. buchneri*, которые отличаются только отношением к мелицитозе: первый микроорганизм сбраживает, второй не сбраживает мелицитозу [1450]. Диапазон температур для роста гомоферментативных видов показан в табл. 3.18. Оптимальная температура для роста *Lbc. brevis* равна 30° С, максимальная – 38° С.

3.18. Технологические характеристики лактобацилл [6, 500, 697, 913, 1025, 1422]

Показатели	*Lbc. casei*	*Lbc. plantarum*	*Lbc. delbrueckii*		*Lbc. helveticus*
			bulgaricus	*lactis*	
Время генерации, мин				35–45	35–45
Температура, ° С					
максимальная	40–45	40–45	45–50	45–52	54
оптимальная	30–32	30–32	42–47	40–44	42–47
минимальная	10–12	10–12	20–22	18–20	20–22
Оптимальный pH				5–5,5	5–5,5
% кислоты в молоке	1,2–1,5[1)]	0,3–1,2	1,5	1,7	2,7
Рост в среде с >6 % NaCl	+	+	–	–	–

[1)] *Lbc. casei subsp. rhamnosus* и *Lbc. casei subsp. tolerans*

Мезофильные лактобациллы отличаются довольно высокой устойчивостью к тепловой обработке: нагревание при 65° С в течение 30 мин выдержали 93% штаммов *Lbc. plantarum* и 97% штаммов *Lbc. casei* [1347], хотя сохранившие жизнеспособность после такой обработки клетки на какое-то время теряют активность [836]. В сырах их активность постепенно восстанавливается. Таким образом, молоко является постоянным источником обсеменения сыров лактобациллами. Количество клеток лактобацилл, попадающих в сыр этим путем, зависит от их содержания в сыром молоке и режима тепловой обработки молока. По голландскому стандарту в пастеризованном молоке для выработки сыра должно содержаться менее одной клетки лактобацилл/мл, что возможно, если в молоке перед пастеризацией содержалось не более 50 клеток/мл этих бактерий [784].

Основным источником лактобацилл в сыре является загрязнение молока после пастеризации, чаще всего через недостаточно хорошо вымытые и продезинфицированные молокопроводы, оборудование, инвентарь [1140, 1576]. Лактобациллы могут попадать непосредственно в сыр из рассола во время посолки [463]. При современной технике производства выработать в промышленных условиях сыр, не содержащий лактобацилл, невозможно.

Мезофильные лактобациллы, по крайней мере часть штаммов, не только выдерживают II нагревание при выработке мелких сычужных сыров, но способны размножаться на этом этапе. Из 30 свежевыделенных из растительных субстратов штаммов *Lbc. plantarum* один рос при 45° С, 10 – при 43° С [1504]. Нижние температурные границы для их роста совпадают с нижними температурами созревания отечественных мелких сыров. В табл. 3.18 указана минимальная температура для роста большинства штаммов мезофильных лактобацилл, равная 10° С, но некоторые штаммы очень медленно утилизируют цитраты и при 8° С

[331]. Таким образом, с точки зрения температуры, мезофильные лактобациллы могут расти на любом этапе производства мелких сычужных сыров, хотя во время созревания довольно медленно. Повышение температуры созревания в интервале от 10 до 15° С увеличивает скорость размножения и выход биомассы лактобацилл в сырах.

Температуры II нагревания при производстве крупных сыров выше максимальных для роста мезофильных лактобацилл, но ниже температур, которые вызывают их гибель. Они сохраняют жизнеспособность после двухчасовой выдержки при 55° С [1201]. В финском блочном Эмментальском сыре температура сырной массы в середине блока снижается до допускающего рост мезофильных лактобацилл уровня за 5 ч, а на расстоянии 6 см от поверхности блока – за 13 ч до окончания прессования [28]. Следовательно, мезофильные лактобациллы могут размножаться в крупных сырах уже во время прессования. Условия же созревания крупных сыров (температура, pH, активность воды) более благоприятны для роста этих микроорганизмов, чем в мелких сырах. Таким образом, и в сырах с высокими температурами II нагревания температурный режим не препятствует размножению мезофильных лактобацилл на всех этапах производства, кроме II нагревания и первой половины прессования.

Штаммы мезофильных гомоферментативных лактобацилл очень различаются по скорости кислотообразования и предельной кислотности в молоке. Остроумова разделила 30 штаммов *Lbc. plantarum* и 13 штаммов *Lbc. casei* по приросту кислотности молока при 30° С и 1 %-ной посевной дозе на три группы, дающих прирост кислотности (°Т), соответственно, 1,0–1,3; 2,4–2,6; 4,7–7,3 через 6 ч и 18–19; 30–34; 46–47 через 24 ч инкубации [1561]. Сильные кислотообразователи сквашивали молоко в этих условиях через 1,2–1,4 сут, слабые – за 4,5–6,0 сут. Лактококки, за исключением штаммов диацетильного лактококка с низкой скоростью кислотообразования, при 30° С и 1 %-ной посевной дозе сквашивают молоко менее чем за 24 ч. Таким образом, скорость развития лактококков в молоке значительно выше скорости роста мезофильных гомоферментативных лактобацилл. Обратная картина наблюдалась с предельной кислотностью в молоке: в опытах Макаровой она равнялась для штаммов *Lbc. plantarum* (101–147)° Т; для *Lbc. casei* – (154–170)° Т, что выше предельной кислотности лактококков (110–120)° Т [1504]. Это свидетельствует о высокой кислотоустойчивости лактобацилл. Они могут расти в молоке при pH ниже 3,8 [220]. Подобные результаты получены другими авторами со штаммами *Lbc. plantarum* [1253, 1574]. Они близки к данным зарубежных авторов, обобщенным Квасниковым и Нестеренко (табл. 3.18) [1422].

Большой разброс данных в пределах вида можно объяснить происхождением штаммов – часто свежевыделенные из природных источников, в том числе из сыра, штаммы мезофильных лактобацилл медленно образуют кислоту в молоке и могут его не свертывать [1200, 1504], но после продолжительного выращивания в молочных средах их активность в молоке повышается.

Недиссоциированная молочная кислота вызывает гибель клеток *Lbc. casei* при концентрации более 94 мМ (8,46%) [547], что выше, чем содержание лактатов в водной фазе сыров [1430], и выше, чем допустимые концентрации лактатов для роста лактококков. Таким образом, содержание в сырах лактатов ниже уровня, препятствующего размножению мезофильных лактобацилл. Следует отметить, что ингибирование роста *Lbc. delbrueckii* начинается в среде с 40–60 г/л молочной кислоты [793].

Скорость роста в молоке мезофильных гомоферментативных лактобацилл тесно коррелирует с их протеиназной способностью [1574]. Многие штаммы мезофильных лактобацилл слабо атакуют казеин [698]. Обогащение молока продуктами гидролиза белков и факторами роста ускоряет рост неактивных в молоке штаммов молочнокислых бактерий [1523]. Плотность популяции *Lbc. plantarum* в двенадцатичасовых культурах в зависимости от типа белкового гидролизата, вносимого в молоко для стимуляции их роста, колеблется в пределах от 785 до 1605 млн. КОЕ/мл [1627]. При этом некоторые штаммы этого вида лучше росли в средах, в которых необходимые им аминокислоты находились не в свободном виде, а в составе низкомолекулярных пептидов. Оптимальный для роста лактобацилл pH находится в интервале 5,5–6,0 [1450], что значительно ниже, чем pH свежего молока.

Лактококки в молоке стимулируют развитие лактобацилл путем образования низкомолекулярных азотистых соединений из казеина и других факторов роста, снижения pH и Eh. Интересно, что и в сырах мезофильные лактобациллы при их введении в состав заквасок не увеличивают содержание водорастворимых белков, повышая количество продуктов более глубокого расщепления белков [220, 461]. Чем выше казеолитическая активность лактококков закваски, тем быстрее размножаются мезофильные лактобациллы в сыре [331]. В совместных с лактококками культурах в молоке выход биомассы *Lbc. casei* увеличился на 39%, протеолитическая активность по отношению к α_{s1}-казеину возросла в 5,8 раза [646]. При автолизе клеток лактококков также высвобождаются вещества, стимулирующие рост лактобацилл [120].

Штаммы *Lbc. plantarum* при введении в закваску в количестве 5–10% от количества лактококков повышают общее содержание жизнеспособных клеток бактерий в закваске в 1,33–1,5 раза, особенно сильно стимулируя рост диацетильного лактококка и лейконостоков [1308]. *Lbc. casei* повышает кислотообразующую активность в совместных с лактококком культурах путем образования валина, лейцина и пептидов [1342].

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 pH [646].

Накопление биомассы микроорганизмами в сыре пропорционально их исходному количеству, удельной скорости и времени размножения.

В молоко вносят с закваской при выработке мелких сыров около 10^7 КОЕ/мл лактококков, что примерно в миллион раз больше, чем исходное содержание лактобацилл. Лактококки размножаются во время выработки и в первые дни созревания сыра, достигая максимума в 5–10-суточных сырах, равного примерно $2 \cdot 10^9$ КОЕ/г, т. е. количество их клеток по отношению к исходному количеству в смеси возрастает примерно в 200 раз. Параллельно с ними размножаются лактобациллы. При одинаковой интенсивности размножения лактококков и лактобацилл в сыре содержание лактобацилл тоже должно увеличиться примерно в 200 раз и составить примерно $2 \cdot 10^3$ КОЕ/г. На самом деле при нормальном развитии микробиологических процессов в мелких сырах содержание лактобацилл в сыре составляет не менее $2 \cdot 10^6$ КОЕ/г, т. е. отношение между лактококками и лактобациллами в сыре в период их максимального содержания становится равным примерно 1000:1, т. е. оно уменьшилось по сравнению с исходным примерно в 1000 раз [784, 1308]. Это говорит о том, что в мелких сырах условия для роста лактобацилл поддерживаются более продолжительное время, чем для лактококков.

Прекращение увеличения содержания жизнеспособных клеток лактококков в сыре обычно совпадает с изчезновением лактозы в сыре или происходит немного раньше этого момента. Однако истощение лактозы не единственная причина прекращения накопления жизнеспособных клеток лактококков в сыре, поскольку в экстрактах трехмесячного сыра, обогащенных лактозой и дрожжевым экстрактом, их рост не вознобновляется [695]. Скорее всего рост лактококков в сырах прекращается в результате воздействия комплекса неблагоприятных факторов, о чем сказано в разд. 3.2.4.

С прекращением увеличения содержания биомассы лактококков заканчивается лактококковая фаза молочнокислого брожения в сыре, но продолжается фаза развития молочнокислых палочек [1445]. Интересно, что двухфазность характерна и для спонтанного молочнокислого процесса в сыром молоке и силосе. Одна причина продолжения роста лактобацилл в сыре после прекращения роста лактококков понятна – это их более высокая кислотоустойчивость. Встает вопрос об источниках энергии для их роста. На этот вопрос отвечает новозеландский ученый Thomas [1086]. В период максимума в мелких сырах насчитывается $(2–3) \cdot 10^9$ КОЕ/г лактококков, что эквивалентно 1–3 мг сухого веса бактерий/г. Под действием собственных энзимов клетки лактококков постепенно лизируются. В модельных условиях, имитирующих условия в сыре, лактобациллы и педиококки используют продукты автолиза клеток микрофлоры заквасок в качестве источников энергии.

Возможны и другие источники энергии, в частности лактаты, количество которых в сырах снижается к концу созревания. *Lbc. plantarum* после длительного культивирования в среде с глюкозой может трансформировать лактаты в ацетаты в присутствии O_2, но нет доказательств, что они могут это делать в сырах [760]. Содержание лактатов в мелких сырах в конце со-

зревания всегда ниже, чем в период максимума, даже при отсутствии их ферментации пропионовокислыми и маслянокислыми бактериями.

Mabbitt & Zielinska (1956) считают, что даже в зрелых сырах сохраняются небольшие количества лактозы и галактозы (около 0,15%), которые не могут быть выявлены обычными методами [331]. По Перфильеву и Рогову, развитие лактококков лимитируется при содержании в среде меньше 0,3% лактозы и увеличении концентрации лактатов больше 2% [1581]. Галактоза в мелких сырах, как продукт гидролиза лактозы термофильным стрептококком, который размножается в этих сырах во время II нагревания и прессования, всегда может присутствовать. Количество термофильных стрептококков в мелких сырах варьирует, особенно в зависимости от соблюдения правил эксплуатации пастеризационных установок. В сырах из сырого молока галактоза забродила на 25-е сутки, из пастеризованного молока – на 53 [971]. Это показывает, что галактозу в сырах сбраживает незаквасочная микрофлора. Показательно, что из твердых, мягких и полумягких сыров были выделены в основном *Lbc. plantarum* и *Lbc. casei subsp. casei*, хотя штаммы последнего подвида или не сбраживают, или медленно сбраживают лактозу, но активно сбраживают галактозу [774, 901].

Прекращается рост мезофильных лактобацилл в сыре после использования доступных источников энергии, так как при добавлении в экстракты трехмесячного сыра лактозы рост в них *Lbc. casei* возобновлялся [695].

На рис 3.7 показано развитие мезофильных лактобацилл в Костромском и Российском сырах со специальным внесением и без внесения в смесь для их выработки этих микроорганизмов [1308]. В кривых, характеризующих изменение содержания мезофильных лактобацилл в сырах без внесения в смесь (лактобациллы в этих сырах представлены «дикими» штаммами), есть перегибы, обычно отражающие временную остановку размножения культур при переходе на другой источник энергии. По времени они совпадают с изчезновением в сырах лактозы. Поскольку в сырах этого возраста автолиз микрофлоры заквасок еще незначителен, лактобациллы в этот момент, очевидно, переходят от сбраживания лактозы к сбраживанию галактозы. *Lbc. casei* и *Lbc. plantarum* сбраживают галактозу, тогда как скорость роста лактококков резко снижается при содержании в среде менее 30 мМ галактозы. Содержание галактозы в мелких сырах колеблется в зависимости от интенсивности размножения термофильного стрептококка. В сырах с высокими температурами II нагревания мезофильные лактобациллы могут быть лучше обеспечены источниками энергии, чем в мелких сырах. Это обусловлено большей интенсивностью размножения в них термофильного стрептококка, неспособностью микрофлоры заквасок сбродить всю лактозу из-за гибели лактококков во время II нагревания и слишком быстрого остывания сырной массы до температуры ниже минимальной границы для роста термофильной микрофлоры. Это особенно касается Советского сыра, имеющего меньшие размеры головки и более короткий срок прессования, чем другие представители сыров этого класса [1315].

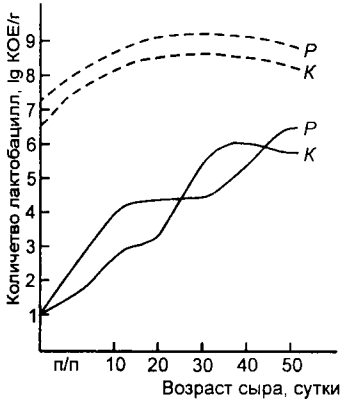


Рис. 3.7. *Динамика развития мезофильных лактобацилл в сыре Костромской (К) и Российский (Р) (средние данные по 21 и 9 выработкам соответственно): ——— – без внесения лактобацилл; - - - - - – с внесением лактобацилл в закваску*

Перегиб кривой изменения содержания лактобацилл в Российском сыре начался раньше, чем в Костромском, что может быть обусловлено более быстрым сбраживанием лактозы в Российском сыре.

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. При содержании в сырах 2% соли и 40% влаги, содержание соли в водной фазе сыра составляет около 4,8%. Штаммы мезофильных лактобацилл, способные размножаться при высоких концентрациях соли, широко распространены в природе, в частности, они являются постоянными обитателями солильных бассейнов [463]. Они растут в молоке с 9–12% соли [276]. Штаммы мезофильных лактобацилл, выделенные из сыров, росли в средах с 12% соли (Smith & Gunningamham, 1962) [1422]. Следовательно, концентрация соли в сырах не является препятствием для роста мезофильных лактобацилл. Следует отметить, что при концентрации в среде 2, 4 и 6% NaCl рост 103 штаммов *Lbc. plantarum* в среднем замедлялся на 35, 59 и 74% соответственно [1253]. Только некоторые штаммы *Lbc. brevis* могут расти в средах с 6,5% соли.

При нормальном развитии микробиологических процессов масштабы размножения лактобацилл в мелких сырах, вырабатываемых на лактококковых закваскаx, невелики: по голландским стандартам в сырах 2-недельного возраста должно быть не более $2 \cdot 10^6$ КОЕ/мл лактобацилл [784]. Примерно такой их уровень наблюдается в отечественных сырах при нормальном развитии молочнокислого брожения [1308]. Положение может измениться при снижении активности лактококковой микрофлоры заквасок. В этом случае большая доза лактозы достанется мезофильным лактобациллам и максимальный выход их биомассы может возрасти до нескольких сотен миллионов КОЕ/г. Содержание лактобацилл в сыре Чеддер в период максимума колеблется от $3 \cdot 10^6$ до $9 \cdot 10^8$ КОЕ/г [600].

Мезофильные лактобациллы активно размножаются и в крупных сырах. В Советском сыре промышленных выработок после прессования их было $2 \cdot 10^6$ КОЕ/г, в течение 20-суточной выдержки сыров при 10–12° С количество мезофильных лактобацилл увеличилось до $2 \cdot 10^7$ КОЕ/г, после 25-суточной выдержки в теплой камере при 22–24° С оно возросло до $8{,}4 \cdot 10^7$, затем во время созревания сыров при 10–12° С количество жизнеспособных клеток мезофильных лактобацилл постепенно снижалось и в 90-суточных сырах составило $5{,}9 \cdot 10^7$ КОЕ/г [1315]. Максимальное содержние мезофильных превысило максимальное содержание термофильных лактобацилл в 1,22 раза. Из Эмментальского сыра, выработанного на трех сыродельных заводах, было выделено 609 штаммов лактобацилл, из которых 68,31% были мезофильными гомоферментативными видами, 19,21% термофильными и 9,03% гетероферментативными видами [1]. Любопытно, что в итальянском сыре Пекорино, вырабатываемом при температуре II нагревания 45–48° С на естественных (сывороточных) заквасках, уже на ранних стадиях созревания из лактобацилл преобладают *Lbc. casei* и *Lbc. plantarum* [226]. *Lbc. casei* преобладала в сыре Пармезан во время созревания [1093]. При испытании заквасок различного видового состава для выработки сыра Рас (Египет) со средней температурой II нагревания (44° С), по содержанию влаги (30–34%) близкому к терочным сырам, лучшие результаты дала комбинация *Lbc. casei* с болгарской палочкой или закваской для йогурта [718].

В сыре Рокфор мезофильные лактобациллы составляют от 1/3 до 1/8 общего количества бактерий: до посолки в нем размножался в основном *Lbc. casei*, после посолки – штаммы *Lbc. plantarum*, способные расти в средах с более чем 10% соли [237].

В сыре Качкавал, вырабатываемом с чеддеризацией и плавлением сырной массы, в трехмесячном возрасте содержание мезофильных лактобацилл было в 10–1000 раз выше, чем содержание лактококков [1657]. Из него было выделено и идентифицировано 439 культур лактобактерий, из которых 89,1% были гомоферментативными мезофильными лактобациллами [1584].

Из испанского твердого сыра с низкой температурой II нагревания из овечьего молока Манчего на разных стадиях созревания выделено 296 штаммов лактобацилл, из которых 134 (45,3%) идентифицировано как *Lbc. casei*, 148 (50%) – как *Lbc. plantarum*, 5 (1,7 %) – как *Lbc. brevis* [774].

Таким образом, и в мелких, и в крупных сычужных сырах имеются ниши для мезофильных лактобацилл. Преобладающими видами мезофильных лактобацилл в мелких сырах являются *Lbc. casei* и *Lbc. plantarum*, постоянно встречаются в них представители гетероферментативного вида *Lbc. brevis*, но в значительно меньших количествах [331, 1010].

Роль в мелких сырах. По количеству биомассы лактобациллы занимают в мелких сырах второе место после лактококков. Резонно полагать, что они должны оказывать существенное влияние на органолептические показатели сыров. Выработки сыров с низкой температурой II нагревания

и Чеддера в асептической ванне в большинстве случаев показали, что лактобациллы при внесении в закваску вместе с лактококками положительного влияния на качество сыра не оказывали [331, 562, 878]. Более того, они иногда ухудшали органолептические показатели сыра. Исходя из этого, авторы этих опытов не рекомендуют включать мезофильные лактобациллы в закваски для выработки сыров с низкими температурами II нагревания, хотя сыры, вырабатываемые в открытой ванне, в которых всегда есть «дикие» штаммы лактобацилл, как правило, быстрее созревают и имеют более выраженный вкус, чем сыры, вырабатываемые в асептической ванне с участием только лактококков [331, 712, 879]. Неоднозначны и результаты экспериментов по выработке сыров в асептической ванне. В опытах ирландских ученых с выработкой сыров в асептической ванне внесение в молоко *специально отобранных штаммов лактобацилл* увеличило содержание молочнокислых палочек в сыре по сравнению с контролем (сыры, вырабатываемые только с участием лактококков) на 3–5 порядков и сделало вкус сыра более приемлемым для потребителя [712].

По-видимому, выводы большинства авторов по экспериментам с выработками сыров в асептической ванне относительно роли мезофильных лактобацилл в мелких сырах требуют корректировки с учетом результатов исследований сыров, вырабатываемых в обычной ванне и производственных условиях. Имеются теоретические предпосылки и экспериментальные доказательства важной роли мезофильных лактобацилл в сырах.

Выше показано, что лактококки не могут достаточно быстро сбродить все углеводы в сыре. Мезофильные лактобациллы сбраживают углеводы, остающиеся после окончания размножения лактококков, и тем самым лишают технически вредную и патогенную микрофлору энергетических источников. Примерами технически вредной микрофлоры являются гетероферментативные лактобациллы (*Lbc. brevis*, *Lbc. buchneri*, *Lbc. fermentum*), способные вызвать в сырах броженый, дрожжевой привкусы и образовывать токсичные амины при длительном созревании или хранении сыров [331, 1010, 1051]. При выработке сыров в асептической ванне эта положительная роль лактобацилл не реализуется из-за отсутствия в сыре посторонней микрофлоры.

Слишком высокая скорость кислотообразования в сырах, вырабатываемых на комбинированных закваскаx (лактококки + лактобациллы), является одним из препятствий широкого применения мезофильных лактобацилл в сыроделии. Однако, еще больший ущерб сыроделию приносит недостаточная скорость молочнокислого брожения во время выработки сыров, что может быть обусловлено действием бактериофагов, низким качеством молока, нередко наблюдаемым весной.

Мезофильные гомоферментативные лактобациллы нечувствительны к бактериофагам лактококков, стимулируют развитие лактококков в совместных культурах, поэтому включение в закваску специально отобранных штаммов мезофильных лактобацилл, заведомо не образующих пороки в сырах, может в определенной степени повысить стабильность молочнокис-

лого брожения при выработке сыра, которая является необходимым условием получения сыров высокого качества. В асептически выработанных сырах эта роль лактобацилл также не проявляется из-за отсутствия фага.

Чем быстрее будет сброжена в сыре лактоза, тем меньше шансов у технически вредной и патогенной микрофлоры размножиться до опасного для качества сыра уровня. В сырах типа Российский для ускорения молочнокислого брожения увеличена продолжительность прессования с таким расчетом, чтобы после прессования его pH был на уровне 5,1–5,25 (во время прессования сыр остывает медленнее, чем во время посолки, что обусловливает более длительное сохранение на высоком уровне скорости молочнокислого брожения). Этот прием повышает стойкость сыра по отношению к вредной микрофлоре только при условии нормального размножения микрофлоры заквасок во время прессования сыра. При низкой активности молочнокислого процесса стойкость к вредной микрофлоре сыров с продолжительным прессованием ниже, чем сыров с обычной продолжительностью прессования, поскольку более медленное остывание сырной массы во время прессования при неактивном молочнокислом процессе ускоряет размножение нежелательной микрофлоры.

Изучено влияние внесения в молоко, наряду с лактококковой закваской, 1% закваски *Lbc. plantarum* или 0,04 % закваски *Lbc. acidophilus* на скорость молочнокислого брожения и развитие БГКП в Российском сыре [1319]. Если в контрольных сырах, вырабатываемых с лактококковой закваской, pH во время прессования снижался до заданного уровня за 6–7 ч, то в опытных сырах с включением в состав закваски *Lbc. plantarum* для этого требовалось 4–5 ч, в сырах с включением в закваску *Lbc. acidophilus* – 3–4 ч. Влияние видового состава закваски на развитие в Российском сыре БГКП показано на рис. 3.8 [1319].

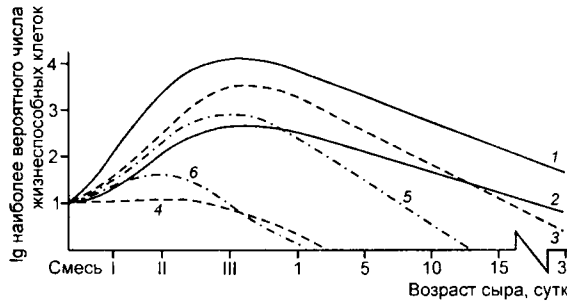


Рис. 3.8. *Влияние видового состава закваски на развитие бактерий группы кишечной палочки (БГКП) в Российском сыре (I – перед прессованием; II – через 2 ч прессования; III – после окончания прессования (прессование заканчивали при снижении pH сыра до 5,3). 1, 3 и 5 – весеннее молоко, 2, 4 и 6 – летнее молоко. 1, 2 – закваска лактококковая; 3, 4 – лактококки + Lbc. plantarum; 5, 6 – лактококки + Lbc. acidophilus)* [1319]

Комбинированный бакпрепарат лактококков и специально подобранных штаммов *Lbc. plantarum* был использован для выработки Российского сыра на нескольких сырзаводах весной [1562]. В качестве контроля вырабатывали сыр на той же лактококковой закваске, но без добавления *Lbc. plantarum*. Характеристика опытной и контрольных заквасок приведена в табл. 3.19. Закваска с лактобациллами имела более высокую кислотообразующую активность и скорость накопления биомассы, что отразилось на процессе выработки сыра: прирост кислотности сыворотки в опытных сырах был выше, чем в контрольных, на 1,7° Т, содержание влаги и pH после прессования в контрольных и опытных сырах равнялись соответственно 46 и 44,8; 5,4 и 5,25. Таким образом, введение в состав производственной закваски *Lbc. plantarum* позволило нормализовать технологический процесс и выработать Российский сыр из весеннего молока с оптимальными содержанием влаги и кислотностью. Общая оценка опытных сыров была в среднем на 1,7 балла выше, чем контрольных, в т. ч. на 1,2 балла за вкус и запах и на 0,5 балла за консистенцию.

3.19. Характеристика производственных заквасок (средние данные)

Тип закваски	Кислотность, °Т	Диацетил + ацетоин, усл. ед.	CO_2, поднятие сгустка, мм	Кол-во бактерий, КОЕ/мл
Лактококки	90,7	10,0	16,3	1000
Лактококки и лактобациллы	95,1	10,9	23,7	1500

Введение в закваски достаточно больших количеств *Lbc. plantarum* для стабилизации скорости молочнокислого процесса можно рекомендовать для производства сыров с повышенным уровнем молочнокислого брожения, для которых характерен более кислый вкус и специфичные структура (отсутствие правильного рисунка) и консистенция. В опытах Lee et al. использование некоторых штаммов *Lbc. casei*, наряду с обычной закваской, позволило выработать сыр Чеддер высокого качества [631].

Преобладание мезофильных лактобацилл в сырах типа Качкавал можно объяснить гибелью стрептококков во время плавления сырной массы и неспособностью термофильных лактобацилл размножаться при температурах созревания Качкавала. Таким образом, в сырах типа Качкавал мезофильные лактобациллы необходимы для выполнения одной из главных функций молочнокислых бактерий в сырах – сбраживания углеводов. Это относится и к рассольным сырам, в которых при использовании только лактококковой закваски углеводы обнаруживаются вплоть до 100-суточного возраста [1597]. Уместно напомнить, что при наличии углеводов стафилококки могут размножаться в анаэробных условиях при концентрациях соли, характерных для рассольных сыров. При выработке рассольных сыров с закваскими, содержащими солеустойчивые штаммы лактококков и *Lbc. casei*, увеличились скорости сбраживания лактозы, цитратов и протеолиза и повысилось качество сыров [1097].

Многие авторы отмечают ускорение созревания, смягчение консистенции, уменьшение горечи в сырах под действием гомоферментативных мезофильных молочнокислых палочек [284, 331, 1099]. Это может быть связано с особенностями их протеолитической системы, характеризуемой невысокой скоростью расщепления казеина, но высокой аминопептидазной активностью. Перенос фрагмента ДНК, кодирующего аминопетидазную активность лактобацилл, в *Lc. lactis subsp. cremoris* и применение полученного реципиента для выработки сыра в 1000 раз увеличило аминопептидазную активность в Чеддере, но не ускорило формирование сырного вкуса [173]. Однако в сырах, выработанных с полученными трансформантами, не было горечи, наблюдаемой в сырах с родительским штаммом лактококков.

В одной из первых серий выработок Чеддера в асептической ванне, в опытных сырах, выработанных только с применением лактококковой закваски, в 7 из 15 сыров был обнаружен прогорклый вкус, который в более легкой форме ощущался только в 3-х контрольных сырах, выработанных из этого же молока в открытой ванне [398]. Порок был вызван размножением в сырах *Clostridium tyrobutyricum*, споры которого были в исходном молоке. В контрольных сырах рост маслянокислых бактерий был подавлен или в большой степени ингибирован штаммами *Lbc. plantarum*, обладающими специфической антагонистической активностью к маслянокислым бактериям. В опытных сырах лактобациллы не были обнаружены, следовательно, в контрольные сыры они попали во время выработки из внешней среды.

Исследования природы антагонизма показали, что выделенные из контрольных сыров штаммы *Lbc. plantarum* образуют в средах перекись водорода в концентрациях, ингибирующих или подавляющих развитие споровых анаэробных бактерий [1295, 1574, 1576, 1578]. В зависимости от штамма, мезофильные лактобациллы образовывали в период максимума от 0,06 до 2,06 мМ H_2O_2 (2–70 мкг/мл) [1576]. $ЛД_{50}$ для различных видов маслянокислых бактерий равняется 8–11 мкг/мл, для молочного и диацетильного лактококков – 17–18 мкг/мл [1308]. Следовательно, можно подобрать штаммы мезофильных лактобацилл, которые будут продуцировать столько перекиси водорода, сколько нужно для подавления роста маслянокислых бактерий, но недостаточно для ингибирования роста лактококков. Кроме этого, мезофильные лактобациллы образуют H_2O_2 в течение первых 72 ч с достижением максимума к концу этого периода. Таким образом, во время выработки сыра максимальное количество H_2O_2 лактобациллы образуют в 3-суточных сырах, когда содержание лактококков уже близко к максимальному. Наиболее часто и наиболее сильные штаммы-антагонисты маслянокислых бактерий среди мезофильных гомоферментативных лактобацилл встречались у *Lbc. plantarum* с низкой скоростью кислотообразования в молоке (82%), в то время как среди штаммов *Lbc. casei* только 39% обладали слабой антагонистической активностью к маслянокислым бактериям [1308]. Штам-

мы *Lbc. casei* образуют также пироглутаминовую кислоту, обладающую широким спектром антибиотической активности [471].

У *Lbc. plantarum* обнаружены штаммы с сильной специфической антагонистической активностью типа бактериоцинов к энтеробактериям [1583]. Влияние включения в закваски штаммов лактобацилл на развитие БГКП в Костромском сыре показано в табл. 3.20.

***3.20. Влияние штаммов лактококков и Lbc. plantarum, обладающих специфическим антагонистическим действием на энтеробактерии, на развитие БГКП в Костромском сыре* [1583]**

Варианты	Количество БГКП (тыс./г) в сыре[1)] в возрасте:					
	п/прес	5 сут	10 сут	30 сут	45 сут	75 сут
Контроль	68	6500	1300	30,0	13,0	12,0
Опыт I	30	1300	130	6,0	2,5	0,3
Опыт II	13	300	130	1,3	0,3	0,3

[1)] Контроль – закваска без штаммов-антагонистов; опыт I – в закваску включены штаммы лактококков – антагонисты энтеробактерий; опыт II – в закваску включены штаммы лактококков и *Lbc. plantarum* – антагонисты энтеробактерий.

В нашей стране закваски, содержащие, наряду с лактококками, штаммы *Lbc. plantarum* со специфической антагонистической активностью к маслянокислым и энтеробактериям, широко применяются в промышленности с начала 70-х годов, и они получили высокую оценку производственников. В настоящее время биологические методы борьбы с вредной для сыроделия микрофлорой разрабатываются и за рубежом. Специфический антагонизм мезофильных лактобацилл по отношению к технически вредной и патогенной микрофлоре выпал из поля зрения авторов экспериментов по выработке сыров в асептических условиях, так как, за исключением указанной выше серии «асептических» сыров, в которой исходное молоко оказалось случайно загрязненным спорами *C. tyrobutyricum*, опыты по взаимодействию различных групп микроорганизмов в сырах, вырабатываемых в асептической ванне, не ставились.

Противоречие в оценке роли мезофильных лактобацилл в производстве мелких сыров авторами опытов по выработке сыров в асептической ванне с полностью контролируемым составом микрофлоры и научно-обоснованной практикой их применения в промышленности могут быть вызваны различиями в методике применения лактобацилл для выработки сыра. При оценке роли мезофильных лактобацилл в сыроделии их вносили в пастеризованное молоко, подготовленное для выработки сыра в количествах, намного превышающих количество лактобацилл в пастеризованном молоке в реальных производственных условиях. Внесение в молоко для выработки сыра достаточно большого количества лактобацилл стимулирует кислотообразующую активность лактококков, что приводит к резкому увеличению скорости нарастания кислотности

сыворотки и сырной массы во время выработки сыра, изменению состава и структуры сырной массы, в частности, к снижению в ней содержания Са и Р и образованию кислого и горького вкуса и крошливой консистенции [1295]. Это наиболее распространенные пороки сыров, вина в которых возлагается на лактобациллы. В опытах Tittsler et al. добавление в закваски *Lbc. casei* повысило кислотность сыра, сделало его консистенцию более мягкой, ускорило созревание, но привело к появлению в сырах кислого и горького вкуса, крошливой консистенции [1099]. Именно из-за этого не получили признания комбинированные закваски (лактококки + лактобациллы), предложенные Руновым (1947).

Введение в состав закваски для производства мелких сыров штаммов *Lbc. plantarum* с низкой скоростью кислотообразования и роста в молоке в количестве, обеспечивающем внесение в смесь для выработки сыра 50–100 КОЕ/мл (0,5–1,0% от количества лактококков), не повышает скорость нарастания кислотности во время выработки сыра сверх допустимого уровня и не вызывает появления в сыре кислого, горького вкуса, крошливой консистенции [1201, 1295]. Не случайно Tittsler сумел получить положительные результаты при использовании в заквасках лактобацилл только со штаммами *Lbc. plantarum*. При целесообразности использования для выработки сыров штаммов лактобацилл с высокой скоростью кислотообразования, их нужно вносить в смесь в количестве нескольких клеток/мл с таким расчетом, чтобы они не оказали воздействие на процессы в сырной ванне. В настоящее время для ускорения созревания и улучшения качества сыров с помощью лактобацилл их клетки вносят в молоко для выработки сыра в состоянии шока (теплового или вызываемого неоднократным замораживанием и размораживанием), в результате которого они не размножаются во время выработки сыра и тем самым не изменяют скорость молочнокислого процесса. Перспективные с точки зрения качества сыра штаммы можно вносить не в молоко для выработки сыра, а в зерно после удаления сыворотки, когда их возможности изменить скорость кислотобразования в сырной массе будут ограничены.

Непосредственное влияние лактобацилл на органолептические показатели сыров как и любых других микроорганизмов зависит от их количества в сыре и характера метаболизма видов и штаммов. Голландские ученые считают, что если численность лактобацилл в сырах 4–6-недельного возраста не превышает $2 \cdot 10^7$/г, то они не вызывают пороков в сырах независимо от видовой и штаммовой принадлежности [784, 1021]. Это понятно, так как в этом случае биомасса лактобацилл составляет только около 1% от биомассы лактококков, и поэтому влияние их на органолептические показатели не может быть заметным, особенно в связи с одинаковыми продуктами энергетического обмена лактококков и гомоферментативных лактобацилл. При использовании в составе заквасок штаммов мезофильных лактобацилл с достаточно высокой кислотообразующей активностью или при низкой активности лактококков, например, при загрязнении заквасок бактериофагами, количество лактобацилл в

сыре достигает больше 10^9/г, что составляет уже около 50% от количества лактококков. В этом случае влияние лактобацилл на органолептические показатели сыров будет заметным и зависимым от индивидуальных свойств видов и штаммов. Так, при содержании в сырах $(1–8)\cdot10^8$/г гетероферментативных лактобацилл в мелких сырах часто наблюдается самокол [600]. Большие количества мезофильных лактобацилл в сыре в зависимости от вида и штамма могут быть причиной появления в сырах нечистого, броженого, дрожжевого, горького, металлического, пряного вкуса и привкусов, самокола и щелевидного рисунка, пороков цвета, но могут и улучшать качество сыра [331, 712]. Это не является специфическим свойством лактобацилл: многие штаммы лактококков также вызывают пороки в сырах (горький вкус, фруктовый, солодовый привкусы и даже вспучивание). В связи с этим в закваски для приготовления сыра включают только специально отобранные штаммы лактококков. То же самое нужно делать и в отношении лактобацилл.

Высокое содержание лактобацилл в сырах приводит к трансформации L(+)-молочной кислоты, образуемой лактококками, в рацемическую смесь с образованием пентагидрата лактата Са, что вызывает пеструю окраску сырной массы (порок «мраморное тесто») [506, 882] и, возможно, мучнистую консистенцию.

Большинство авторов считает, что чаще всего пороки в мелких сырах вызывает гетероферментативная мезофильная лактобацилла вида *Lbc. brevis* [331, 1010]; способность *Lbc. plantarum* вызывать пороки в сыре зависит от штамма, но обычно сыры с этим видом имеют более высокое качество и реже встречаемую и менее выраженную горечь [331, 1289, 1295, 1308, 1620].

Солеустойчивые штаммы *Lbc. plantarum*, попадающие в сыр из рассола и с сычужным порошком, могут вызывать в мелких сырах в старом возрасте самокол (они образуют CO_2 из аминокислот), фенольный и гнилостные запахи, мучнистую консистенцию [463, 1006]. Для предотвращения появления пороков, вызываемых солеустойчивыми лактобациллами, их содержание в рассоле не должно превышать 1000 КОЕ/мл [884]. Некоторые штаммы *Lbc. plantarum* при достаточно высоком содержании в сыре вызывают появление пряного вкуса. Описан порок сыра Моцарелла «мягкое тесто», выражающийся в потере сыром плавимости и невозможности разрезать его на ломтики [461]. Порок вызвала *Lbc. casei subsp. casei*. Из изложенного выше можно сделать следующий вывод: мезофильные гомоферментативные лактобациллы в зависимости от индивидуальных свойств штаммов и видов могут и ускорять созревание и улучшать качество мелких сыров, но могут и вызывать в них пороки. В состав заквасок для производства этих сыров нужно включать специально отобранные, проверенные штаммы лактобацилл, обладающие ценными для сыров свойствами.

Роль в крупных сырах. Размножение мезофильных гомоферментативных лактобацилл в Советском сыре показано в табл. 3.21 [1200].

В молоко для опытных сыров вносили около 50 КОЕ/мл мезофильных лактобацилл, в сырах после прессования их насчитывалось 1,7 млн. КОЕ/г, следовательно, они выдержали II нагревание и начали активно размножаться во время прессования сыров. Количество жизнеспособных клеток мезофильных лактобацилл продолжало увеличиваться до конца выдержки сыра в теплой камере. В контрольных сырах размножение мезофильных лактобацилл началось после прессования и так же, как в опытных сырах, прекратилось к концу выдержки в теплой камере.

3.21. Изменение содержания мезофильных лактобацилл в Советском сыре [1200]

Возраст сыра, сут	Количество, 10^6 КОЕ/г	
	контроль[1)]	опыт[1)]
После прессования	< 0,0001	1,7
6	6·0,003	7,1
27	27·0,003	60,2
40	23,8	145,9
60	15,5	113,6
90	13,9	127,8

[1)]Контроль – сыры на закваске без мезофильных лактобацилл; опыт – в молоко внесено 0,1% закваски мезофильных лактобацилл

В зрелых сырах мезофильные лактобациллы составляли 62–98% от общего количества бактерий. В опытных сырах после прессования количество мезофильных лактобацилл примерно в 1200 раз превышало их количество в контрольных сырах, в 40-суточном возрасте (период максимума) – только в 6,3 раза. Изменение в соотношении, очевидно, обусловлено тем, что в сырах имеется ограниченное количество источников энергии, доступных для мезофильных лактобацилл, которое в опытных сырах было быстрее исчерпано этими бактериями. То, что максимальное содержание мезофильных лактобацилл в опытных сырах было выше, чем в контрольных, можно объяснить тем, что в опытных сырах они начали раньше размножаться, когда в сырной массе было достаточно лактозы.

Таким образом, главной функцией мезофильных лактобацилл в крупных сырах является сбраживание источников энергии, по каким-либо причинам несброженных микрофлорой традиционных заквасок, в состав которых входят лактококки, термофильный стрептококк и термофильные лактобациллы. Лактококки во время выработки крупных сыров погибают в процессе II нагревания, термофильный стрептококк перестает размножаться после прессования, термофильные лактобациллы – во время посолки сыра [1398]. От того, каким бактериям достанутся несброженные микрофлорой закваски источники энергии, зависит качество сыра. В опытах, результаты которых изложены выше, в молоко, из которого вырабатывали опытные сыры, вносили специально отобранные штаммы мезо-

фильных лактобацилл, в частности, не ингибирующие рост пропионовокислых бактерий. Опытные сыры в этих опытах имели более выраженный вкус, хорошую консистенцию и развитый рисунок: их оценка была на 3,4–4,6 балла выше оценки контрольных сыров, в которых мезофильные лактобациллы были представлены «дикими» штаммами [1200].

В Эмментальском блочном сыре, вырабатываемом с применением традиционных заквасок, дикие штаммы мезофильных лактобацилл начали активно размножаться в сыре во время посолки, и их количество увеличивалось на всем протяжении созревания [1212]. Качество сыров в этих опытах снижалось при увеличении доли мезофильных лактобацилл в микрофлоре сыра. Среди «диких» штаммов мезофильных лактобацилл есть антагонисты пропионовокислых бактерий [499]. В то же время применение в составе заквасок специально отобранных штаммов *Lbc. casei* ускорило созревание и улучшило вкус сыра Эмменталь [682].

Постоянное присутствие мезофильных лактобацилл в крупных и мелких сырах, влияние их видовых и штаммовых особенностей на качество продукта диктуют необходимость замены «диких» штаммов мезофильных лактобацилл культурными, специально подобранными для сыроделия [1201]. Закваски для крупных сыров, в состав которых входят мезофильные лактобациллы, вырабатываются в России с начала 80-х годов. Они присутствуют в сывороточных закваскаx, применяемых в производстве итальянских сыров [360], а в настоящее время ставится задача их включения в промышленные бактериальные препараты для производства крупных сыров [682].

Термофильные лактобациллы

В сыроделии для производства твердых сыров с высокими температурами II нагревания применяют *Lbc. helveticus* (швейцарская палочка) и *Lbc. delbrueckii* с подвидами: *bulgaricus* (болгарская палочка) и *lactis* (молочная палочка). Для производства кисломолочных сыров применяют *Lbc. acidophilus* (ацидофильная палочка). В крупных сырах часто обнаруживают гетероферментативный вид термофильных лактобацилл – *Lbc. fermentum* [180, 499], обычно обнаруживаемый и в естественных (сывороточных) закваскаx для производства крупных сыров, но в состав промышленных заквасок этот вид, за небольшим исключением, не включают. Дифференциальные характеристики гомоферментативных термофильных лактобацилл, применяемых в сыроделии, приведены в табл. 3.16.

Термофильные лактобациллы выдерживают пастеризацию молока, принятую в сыроделии; кислотоустойчивы: предельная кислотность в молоке (% молочной кислоты) у болгарской и молочной палочек равна 1,5–1,7, у швейцарской – 2,7 (табл. 3.18). Средняя кислотность молока после инкубации в течение 24 ч при 37° С (г мол. кислоты/100 мл) была для штаммов *Lbc. helveticus* 1,25, болгарской и молочной палочек 0,78; pH, соответственно, равнялся 3,81 и 4,0 [1347]. В опытах Тер-Казарьяна с соавт. прирост кислотности в 27 культурах *Lbc. helveticus* после инкубации при 45° С и 5 %-ной

посевной дозе в течение 6 ч равнялся 33° Т [1692]. При средней кислотности суточных культур 144° Т колебания составили от 86 до 195° Т. «Медленные» штаммы *Lbc. helveticus* свертывали молоко при 5% посевной дозе и оптимальной температуре за 7 сут, «быстрые» – за 16 ч [744]. Они обладали низкой казеолитической активностью. Болгарская палочка при инокуляции 3% и оптимальной температуре свертывает молоко за 3–4 ч. В совместных культурах термофильные лактобациллы и термофильный стрептококк, а также лактококки стимулируют рост друг друга.

Температура II нагревания в производстве крупных сыров равна 50–57° С, т. е. близка к максимальной границе для роста термофильных лактобацилл или немного выше ее (табл. 3.18). После II нагревания во время выработки крупных сыров они быстро восстанавливают активность и начинают размножаться во время прессования сыров. Термофильные лактобациллы прекращают размножаться во время посолки, когда температура сыра снизится до 18–20° С, и возобновляют на какое-то время размножение после помещения сыра в теплую камеру.

Термофильный стрептококк стимулирует рост болгарской палочки путем образования небольших количеств муравьиной кислоты и CO_2; лактобациллы, в свою очередь, обеспечивают лактококки низкомолекулярными продуктами протеолиза. Взаимостимулирующее действие отмечено и между термофильным стрептококком и *Lbc. helveticus* (Accolas et al., 1971) [180]. Лактококки в смешанных культурах в соотношении 4:1 стимулируют рост в молоке термофильной микрофлоры заквасок для производства крупных сыров [226].

Характер взаимодействия между термофильными лактобациллами и маслянокислыми бактериями зависит от индивидуальных свойств штаммов. В средах с контролируемым pH (не ниже 5,2) 75% штаммов *Lbc. helveticus*, 62,5% штаммов болгарской и 60% штаммов молочной палочек стимулировали рост маслянокислых бактерий [1318]. Kornonen нашел луночным методом штаммы *Lbc. helveticus* и болгарской палочки, которые ингибировали рост маслянокислых бактерий в твердой среде [574]. Антагонизм по отношению к маслянокислым бактериям у болгарской палочки был сильнее, но она угнетает рост и пропионовокислых бактерий [89].

Термофильные лактобациллы выполняют в крупных сырах две функции: сбраживают углеводы и вносят большой вклад в формирование специфических для этого класса сыров органолептических показателей. Они не могут быть заменены термофильным стрептококком из-за особенностей сбраживания последним лактозы, что обусловливает накопление в сырах галактозы. Термофильные стрептококки чаще всего не сбраживают галактозу или сбраживают ее очень медленно.

Галактоза при использовании в составе закваски Гал$^-$ штаммов термофильного стрептококка может быть сброжена другими микроорганизмами закваски: лактококками и лактобациллами или посторонней микрофлорой. Лактококки сбраживают галактозу в составе лактозы гомоферментативным путем, а свободную галактозу, за исключением от-

дельных штаммов, трансформируют в лактат, формиат, ацетат, этиловый спирт и, возможно, в небольшие количества CO_2, причем доля лактатов составляет от 34 до 74% от количества сброженной галактозы [1092]. Однако, лактококки почти полностью погибают во время II нагревания. Из термофильных лактобацилл галактозу сбраживает *Lbc. helveticus* с образованием D(–)- и L(+)-молочной кислоты; *Lbc. delbrueckii subsp. lactis* и *Lbc. delbrueckii subsp. bulgaricus* галактозу не сбраживают (из глюкозы образуют *D*-молочную кислоту) [227, 1111]. Сбраживание углеводов в Эмментальском сыре показано на рис. 3.9, образование пропионатов и ацетатов – на рис. 3.10 [1025].

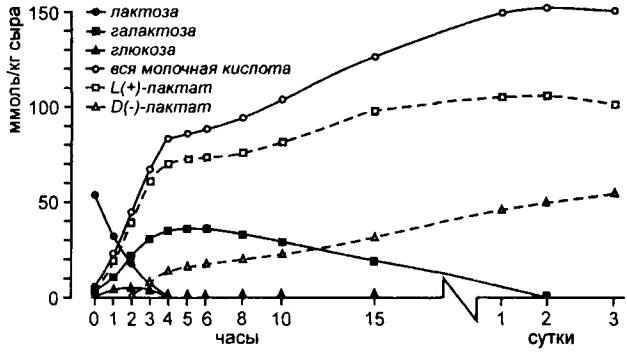


Рис. 3.9. *Концентрация лактозы, глюкозы, галактозы, D(–)- и L(+)-лактатов в Эмментальском сыре* [1025]

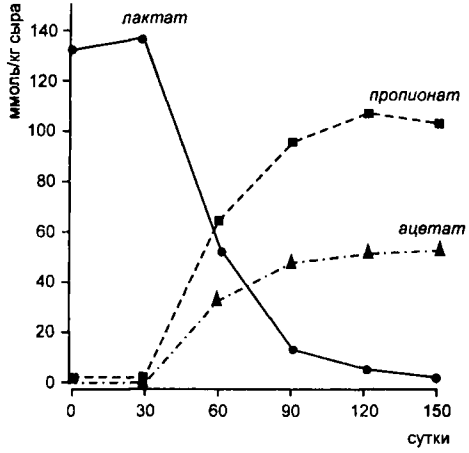


Рис. 3.10. *Расщепление лактатов, образование пропионата и ацетата во время созревания Эмментальского сыра* [1025]

Таким образом при участии термофильного стрептококка в сбраживании лактозы во время выработки сыров с высокими температурами II нагревания в состав заквасок должна входить *Lbc. helveticus*, сбраживающая галактозу, остающуюся после сбраживания термостойким стрептококком лактозы. Если в состав закваски включены другие виды термофильных лактобацилл, не ферментирущие галактозу, галактоза в сыре не будет сброжена заквасочной микрофлорой. Чем больше останется несброженной термофильными лактобациллами закваски галактозы, тем больше будет возможностей для размножения в крупных сырах мезофильных лактобацилл, в том числе гетероферментативных, которые ухудшают вкус, консистенцию и рисунок сыров [358]. Кроме этого, *Lbc. helveticus* образует D(–)- и L(+)-молочную кислоту, болгарская и молочная палочки только D(–)-молочную кислоту, а пропионовокислые бактерии более охотно используют L(+)-лактаты [197].

Lbc. helveticus не размножается при посеве в среду, содержащую 2% и больше NaCl, но если ее добавить в среду после роста этого вида в течение 20 ч при 42° С и в присутствии мела, то предельная концентрация соли повышается до 4% [833].

В свою очередь, термофильные лактобациллы не могут заменить лактококки и термофильный стрептококк в заквасках для производства крупных сыров, что изменило бы соотношение между L(+)- и D(–)-лактатами в сыре, и, главное, большое количество термофильных лактобацилл в молоке во время выработки сыра резко увеличивает скорость кислотообразования, изменяет состав молочного сгустка и ухудшает качество сыра. В опытах Biede et al. добавление в молоко для выработки Швейцарского сыра в дополнение к обычной закваске даже 0,04% закваски болгарской палочки вызвало такие пороки в сыре, как горький и кислый вкус, правда, в легкой форме [89]. В малых же дозах термофильные лактобациллы не успевают сбродить все сахара в сыре даже в присутствии лактококков и термостойкого стрептококка. Таким образом, в сбраживании сахаров в производстве крупных сыров принимают участие лактококки, термофильный стрептококк, *Lbc. helveticus* и, как показано в предыдущем разделе, мезофильные лактобациллы. Такое положение обусловлено сочетанием в технологии этих сыров высоких температур II нагревания и низких температур созревания.

Из «диких» термофильных лактобацилл гетероферментативный вид *Lbc. fermentum* сбраживает лактозу и галактозу с образованием CO_2, который, по мнению итальянских ученых, причастен к вспучиванию крупных сыров [629, 760]. Это может произойти, если достаточно большое количество углеводов не будет сброжено микрофлорой заквасок. В то же время среди представителей этого вида обнаружены штаммы, обладающие специфическим антагонистическим действием по отношению к маслянокислым бактериям. Разработан и вырабатывается в промышленных масштабах бактериальный концентрат для производства крупных сыров, в состав которого входят штаммы термофильных лактобацилл, обладающие специфичным антагонизмом к маслянокислым бактериям [1671].

Важную роль в формировании специфического сырного вкуса в крупных сырах играет высокая протеолитическая активность термофильных лактобацилл, особенно способность высвобождать пролин и другие аминокислоты [89, 499]. По протеолитической активности термофильные лактобациллы намного превосходят термофильный стрептококк и пропионовокислые бактерии [1025]. Недостаточный протеолиз приводит к появлению в сырах таких дефектов, как слабовыраженный сырный вкус и аромат.

Высокая внутриклеточная протеолитическая активность *Lbc. helveticus*, проявляющаяся в образовании низкомолекулярных продуктов расщепления казеина, в частности свободных аминокислот, в настоящее время используется для ускорения созревания и предупреждения горечи в мелких сырах [22, 53, 329, 504, 505, 549, 974, 1001]. Для того чтобы использование этого вида не изменило характер кислотообразования во время выработки сыра, клетки *Lbc. helveticus* вносят в молоко в состоянии шока, достигаемого высушиванием, сублетальным нагреванием, замораживанием, или в виде бесклеточных экстрактов или протопластов, получаемых под действием лизоцима. Эти факторы блокируют кислотообразование, но не активность внутриклеточных протеолитических энзимов, которая проявляется во время созревания сыра. Положительные результаты получены при использовании *Lbc. helveticus* и *Lbc. lactis* в производстве блочного сыра с низкими температурами II нагревания, что можно объяснить более медленным остыванием сырной массы в этом сыре [1363].

Испытано влияние внесения в лактококковую закваску *Lbc. helveticus WSU19* на химический состав и сенсорные показатели сыра Чеддер. Качество опытного сыра через 3 и 6 месяцев созревания было выше, чем контрольного. В опытных сырах интенсифицировался протеолиз, обнаружена азотистая фракция с молекулярной массой 11 кДа, которая не обнаружена в контрольных сырах.

3.3. Пропионовокислые бактерии

3.3.1. Общие свойства

Пропионовокислые бактерии принимают участие в формировании специфических органолептических показателей сыров с высокими и средними температурами II нагревания. Получен также патент на использование *P. freudenreichii subsp. shermanii* в производстве сыров без созревания, в частности сыра Коттедж, для предотвращения развития плесневых грибов и психротрофных бактерий [112].

Пропионовокислые бактерии – грамположительные, не образующие спор, неподвижные палочки, образуют каталазу. Обычно плеоморфные, дифтероидные или булавовидные с одним закругленным, другим – конусообразным или заостренным концом. Клетки некоторых культур могут иметь кокковидную, удлиненную, раздвоенную и даже разветвленную

формы. Расположение клеток: одиночное, в парах, коротких цепочках, V- или Y-образное, в виде «китайских иероглифов» [1450, 1552]. Факультативные анаэробы, вариабельные по аэротолерантности.

Большинство культур лучше растет в анаэробных условиях. Сбраживают углеводы, лактаты, пируваты с образованием пропионовой и уксусной кислот, небольших количеств изовалериановой, муравьиной, янтарной или молочной кислот, CO_2, а также цитраты в присутствии лактатов. Лактаты и глюкоза более благоприятны в качестве источника энергии, чем лактоза. Основные продукты ферментации лактатов показаны в уравнении:

$$3CH_3CHOHCOO^- \longrightarrow 2CH_3CH_2COO^- + CH_3COO^- + CO_2 + H_2O \quad (3.5)$$

Отношение количества пропионовой кислоты к уксусной обычно равно 2:1, но оно меняется в широких пределах и может достигать 5:1 [201]. Наиболее быстрый рост при 30–37° С и pH 7,0.

Пропионовокислые бактерии ферментируют аланин, серин, аспарагин и глицин с образованием CO_2, NH_3, уксусной и пропионовой кислоты [1241]. Скорость ферментации максимальна при 30° С, но также достаточно высока при 20° С и даже при 7° С.

Большинство штаммов растет в глюкозном бульоне с 20% желчи. Колонии могут быть белыми, серыми, розовыми, красными, желтыми, оранжевыми [1450].

Долгое время не удавалось обнаружить бактериофаги к пропионовокислым бактериям. В 1995 г. появилось сообщение о выделении 19 бактериофагов из 32 сыров с высокими температурами II нагревания [349]. Фаги обнаружены в 16 из 32 исследованных сыров, выработанных из сырого молока и содержащих достаточно большое количество пропионовокислых бактерий. Фаги были чувствительны к пастеризации молока.

3.3.2. Классификация, среда обитания

Пропионовокислые бактерии – представители необходимой микрофлоры для производства большинства сыров с высокими и средними температурами II нагревания, ответственные за формирование в них специфического слегка сладковатого вкуса и крупного рисунка, образуемых в результате сбраживания части лактатов до пропионовой кислоты и CO_2 и расщепления казеина с образованием большого количества пролина, обладающего сладковатым вкусом.

Многие представители микрофлоры кожных покровов человека также являются пропионовокислыми бактериями [201]. Некоторые авторы подразделяют пропионовокислые бактерии на классические, преимущественно выделяемые из сыров, и кожные. Классические пропионовокислые бактерии по степени гомологичности и составу клеточной стенки подразделяют на четыре вида с вариантами (табл. 3.22) [201, 1552].

В сырах обычно обнаруживается *P. freudenreichii*. От других видов классических пропионовокислых бактерий он отличается более узким спектром ферментируемых углеводов и повышенной термоустойчиво-

стью [201]. *P. arabinosum* – единственный вид, не образующий каталазу, и *P. pentosaceum*, образующий незначительное количество каталазы, объединены в один вид *P. acidipropionici*. Виды *P. thoenii* и *P. jensenii* генетически родственны друг с другом, входящие в них подвиды отличаются составом ферментативных комплексов.

P. freudenreichii разделяют на три подвида; *subsp. shermanii* отличается от *subsp. freudenreichii* образованием кислоты из лактозы и способностью свертывать молоко [1231]. 52% штаммов пропионовокислых бактерий, выделенных из финского Эмментальского сыра, были идентифицированы как *P. freudenreichii*, 12% – как *P. pentosaceum*, 10% – как *P. shermanii* и 10% – как *P. peterssonii* [716]. Из штаммов пропионовокислых бактерий, выделенных из Советского сыра, 48% отнесено к *P. shermanii*, около 30% – к *P. freudenreichii*, остальные к *P. jensenii*, *P. technicum*, *P. pentosaceum*, *P. arabinosum* [1197].

3.22. Дифференциация классических видов пропионовокислых бактерий [201, 1552]

Виды	Ферментация сахарозы и мальтозы	Восстановление нитратов	Цвет пигмента
P. freudenreichii	–	+ или –	кремовый, может быть бронзовый или розовый
P. thoenii	+	–	от оранжевого до красно-коричневого
P. jensenii	+	–	от белого до розового
P. acidipropionici	+	+	белый

Примечания: ни один не разжижает желатин; из арабинозы, целлобиозы и глицерола *P. freudenreichii* не сбраживает целлобиозы; *P. thoenii* сбраживает только глицерол; *P. jensenii* не сбраживает арабинозу, не все штаммы этого вида сбраживают целлобиозу; *P. acidipropionici* сбраживает все три углевода.

Обычно местом обитания классических пропионовокислых бактерий считают молоко и молочные продукты, в частности сыры. Это не совсем верно, так как молоко при выходе из вымени не содержит пропионовокислых бактерий и заражается ими из различных объектов внешней среды. Работ по выявлению мест обитания пропионовокислых бактерий недостаточно, однако различными исследователями они были обнаружены в почве и силосе [201], а также в кишечном тракте животных, в рубце млекопитающих [1025, 1450].

По-видимому, в сыром молоке они есть всегда. В сыром молоке, поступающем на сыродельные заводы Алтайского края, в зависимости от общей бактериальной обсемененности содержалось от 0,4 до 42 тыс. клеток пропионовокислых бактерий в 1 мл [1198]. Количество пропионовокислых бактерий в сыром молоке тесно коррелирует с общим со-

держанием бактерий (r = 0,93–0,94), менее тесно – с содержанием кишечной палочки (r = 0,61–0,88) [1197]. Это свидетельствует о том, что основное количество пропионовокислых бактерий попало в сырое молоко не из кишечного тракта животных. Исследования 501 пробы молока, доставленного на завод по производству Швейцарского сыра за рубежом, показали, что свыше 50% из них содержали менее 5 клеток/мл пропионовокислых бактерий и только в 9,3% случаев их число превышало 50 клеток/мл [1231]. В молоке в сырной ванне на этом же заводе, содержалось от 10 до 5600 клеток/мл пропионовокислых бактерий (в среднем 50 клеток/мл). Следовательно, на заводе произошло дополнительное обсеменение молока пропионовокислыми бактериями.

Одним из источников обсеменения молока пропионовокислыми бактериями могут быть препараты молокосвертывающих энзимов, содержащие от 4800 до 7800 клеток/мл этих микроорганизмов [1198]. При таком обсеменении препаратов молокосвертывающих энзимов с ними попадет в молоко 120–200 КОЕ/л пропионовокислых бактерий. Возможным источником обсеменения молока возбудителями пропионовокислого брожения может быть плохо вымытое и продезинфицированное оборудование и инвентарь.

3.3.3. Устойчивость к внешним воздействиям, рост в молоке и сыре

Данные о термоустойчивости пропионовокислых бактерий противоречивы. По результатам опытов Алексеевой с соавт., во время пастеризации молока при 71° С в течение 15 с погибает 99,8–99,97% клеток пропионовокислых бактерий и в пастеризованном молоке, поступающем в сырную ванну, их количество составляло от менее 1 до 250 клеток/мл [1198]. В опытах Белоусовой 10 штаммов пропионовокислых бактерий выдерживали нагревание при 55, 60 и 65° С в течение 60, 15 и 5 мин соответственно [1231]. При этом температуры 71–72° С явились критическими: нагревание при 72° С в течение 10 с они выдерживают, а в течение 20 с уже не выдерживают. Молодые клетки более чувствительны к нагреванию, термоустойчивость в молоке выше, чем в бульоне. Двухчасовая выдержка молока при 55° С – температуре II нагревания при выработке крупных сыров – сильно уменьшает содержание пропионовокислых бактерий.

Для сыроделия особый интерес представляют минимальные температуры для роста пропионовокислых бактерий. Изучение 33 коллекционных и 16 неидентифицированных свежевыделенных штаммов пропионовокислых бактерий показало, что при 2,8° С только 3 свежевыделенные культуры дали сомнительный рост, при 7,2° С могли расти 12 свежевыделенных и 16 коллекционных штаммов, при 12,8° С росли все исследованные культуры за исключением двух коллекционных [818]. Большинство штаммов пропионовокислых бактерий, выделенных из Советского сыра, не росли при 8–10° С, но один штамм, отнесенный к *P. jensenii*, в 100 мл лактатной среды за 5 сут при 8–10° С образовал 14 мг CO_2 [1559].

Рост пропионовокислых бактерий в сырах во время их созревания в прохладных камерах вызывает самокол, что, очевидно, связано с недостаточной пластичностью сырной массы при низких температурах [1554, 1556]. В связи с этим в производстве крупных сыров следует использовать только штаммы пропионовокислых бактерий, неспособные ферментировать лактаты в прохладных камерах для созревания. Следует отметить, что *P. shermanii* могут образовывать CO_2 при 7° С не только из лактатов, но и из свободных аминокислот [1241].

Разработан способ экспериментальной селекции чувствительных к холоду мутантов пропионовокислых бактерий, заключающийся в обработке родительской культуры N-метил-N'-нитро-нитрозогуанидином (150 мг/мл в течение 30 мин при 32° С), достаточной для уничтожения 99% клеток, с последующей инкубацией в среде с 2000 мг/мл пенициллина G при 14° С в течение 48 ч для отбора мутантов, неспособных расти при температуре 14° С и ниже [445]. Получено девять мутантов, которые росли при 37° С с такой же скоростью, с какой росли родительские штаммы, но намного медленнее родительских при 14° С [363].

В молоке даже при оптимальных температурах пропионовокислые бактерии размножаются медленно, некоторые виды и штаммы вообще не свертывают молоко, другие свертывают его в течение 2–9 сут [1231]. Скорость образования пропионовой и уксусной кислот повышалась в 2,25–4,5 раза при внесении в молоко дрожжевого экстракта и в 1,6–4,6 раза в присутствии лактата натрия. Пептонизированное молоко, гидролизат казеина и печеночный экстракт оказали менее сильное стимулирующее действие на пропионовокислые бактерии.

На накопление биомассы пропионовокислых бактерий оказывает влияние внесение в среду бесклеточных фильтратов или культуральной жидкости молочнокислых бактерий, используемых в производстве сыров с высокими температурами II нагревания [204, 841, 1670]. Характер влияния зависит от вида и штамма молочнокислых бактерий. Так, фильтраты термофильного стрептококка и *L. helveticus*, но не молочного лактококка, стимулировали развитие *P. freudenreichii subsp. freudenreichii* и в меньшей степени *subsp. shermanii*. Выдержка при 80° С в течение 20 мин существенно уменьшила стимулирующее действие фильтратов [204]. Аминокислоты и пептиды, образуемые молочнокислыми бактериями, в частности *L. helveticus*, за исключением треонина и цистина, использовались пропионовокислыми бактериями [841]. Сычужный порошок и плазмин в отсутствие молочнокислых бактерий не влияют на размножение; в присутствии молочнокислых бактерий, осуществляющих дальнейший гидролиз (до свободных аминокислот и низкомолекулярных пептидов) продуктов расщепления казеина сычужным порошком и плазмином, рост пропионовокислых бактерий стимулируется [41]. Однако слишком высокое содержание свободных аминокислот в среде может ингибировать рост пропионовокислых бактерий. Добавление в сывороточную среду аспартата стимулировало рост *P. freudenreichii*, но понизило долю пропионовой кислоты, образующейся при сбраживании лактата [841].

Выделенные из крупных сыров штаммы *L. rhamnosus* и *L. casei* отрицательно влияли на рост пропионовокислых бактерий в сырах с высокими и средними температурами II нагревания [499]. Это же отмечали Климовский с соавт. [1432]. Другие авторы отмечают стимулирование роста пропионовокислых бактерий штаммами *L. casei* и их положительное влияние на образование глазков и вкус сыра [683]. Различие в результатах этих опытов вызвано условиями их проведения, в частности способами нейтрализации кислоты, образуемой лактобациллами, хотя нельзя исключить и образование некоторыми штаммами лактобацилл специфических антибиотических веществ в дополнение к органическим кислотам.

В опытах Lee et al. при совместном развитии в среде с минимальным содержанием глюкозы в анаэробных условиях между *L. plantarum* и *P. shermanii* наблюдался комменсализм, несмотря на снижение pH, которое однако лимитировалось содержанием глюкозы [633].

Из 12 штаммов термофильных лактобацилл рост пропионовокислых бактерий ингибировали 2 штамма *L. lactis*, 2 штамма *L. helveticus* и 1 штамм *L. acidophilus* [1169]. *L. helveticus* и *L. acidophilus* ингибировали 11 из 17 штаммов пропионовокислых бактерий, *L. lactis* ингибировал развитие небольшого количества штаммов. Ингибирующие факторы были термостабильные и термолабильные.

С другой стороны, использование культуральной среды некоторых штаммов мезофильных и термофильных лактобацилл в производстве концентрата пропионовокислых бактерий позволило не только увеличить выход их биомассы, но и повысило скорость развития пропионовокислых бактерий в крупных сырах [1675]. По-видимому, влияние молочнокислых бактерий на рост пропионовокислых многопланово, включает образование стимулирующих и ингибирующих факторов.

Молочнокислые бактерии, в зависимости от рода, образуют разные изомеры молочной кислоты, а пропионовокислые бактерии сбраживают изомеры молочной кислоты с неодинаковой скоростью. В среде со смесью изомеров молочной кислоты пропионовокислые бактерии прежде всего используют L(+)-лактат [197], что должно учитываться при подборе микрофлоры заквасок для производства крупных сыров. В культуральной среде *L. helveticus* концентрация L(+)-лактата выше, чем D(–)-лактата [841].

Противоречивы данные об устойчивости пропионовокислых бактерий к поваренной соли, что, по-видимому, обусловлено ее зависимостью от штамма и других показателей среды, в частности от pH [401]. Antilla (1955) сообщал, что ингибирование роста пропионовокислых бактерий начинается при содержании в среде 3% NaCl. Рост быстрорастущих штаммов пропионовокислых бактерий в лактатной среде при pH 7,0 ингибировали 6% соли, при pH 5,2 – уже 3%, медленно растущие штаммы, наоборот, были более солеустойчивы при pH 5,2 (Rollman & Sjostrom, 1946) [401]. Наиболее устойчив к соли *P. shermanii* (предельная концентрация 6,7%, $A_в$ = 0,955) [1147], что, очевидно, и является причиной преобладания этого подвида в Советском сыре [1197]. В опытах Алек-

сеевой и Анищенко солеустойчивость пропионовокислых бактерий, выделенных из Советского сыра, изучалась в лактатной среде с pH 7,0 при 22° С [1196]. Из 23 исследованных штаммов наибольшую устойчивость к соли показали два штамма *P. shermanii* и *P. technicum*: они росли при 5,2% соли. В среде с 6,5% соли жизнеспособные клетки после 27 сут инкубации сохранились только у 6 штаммов. Скорость накопления биомассы в среде с 4,5% NaCl была в 10 раз ниже, чем в присутствии 1,4% NaCl. Чувствительность к соли зависит от штамма [1195].

Содержание соли в зрелых отечественных сырах с высокой температурой II нагревания (Советском, Швейцарском) обычно находится на уровне 1,5–2,0%, что составляет 3,8–5,0% в водной фазе; в сырах этого класса, вырабатываемых в Швейцарии, оно в среднем равно (%): в Эмментальском – 0,65 (1,8 в водной фазе), в Грюйере – 1,45 (3,9), в Аппенцеллере – 1,6 (3,9) [1025]. Таким образом, уровень посолки зарубежных сыров с высокими температурами II нагревания ниже, чем отечественных. В то же время интенсивность развития пропионовокислых бактерий в сырах зависит от уровня их посолки (табл. 3.23) [1554]. Содержание пропионовокислых бактерий неодинаково в различных слоях головки сыра: в наружном слое Советского сыра, в котором концентрация соли в водной фазе составила 4,4%, в 90-суточном возрасте содержание пропионовокислых бактерий равнялось $32 \cdot 10^6$, в центральном слое с концентрацией соли в водной фазе 2,9% – $69 \cdot 10^6$ КОЕ/г. Для сравнения укажем, что в сырах этого класса, вырабатываемых в Швейцарии, количество пропионовокислых бактерий в период максимума равняется $(1–10) \cdot 10^8$ КОЕ/г [1025], а содержание кислот в них показано в табл. 12.5. Сыр Советский отличается от Швейцарского (Эмментальский сыр часто называют просто «Швейцарским») не только значительно более низким содержанием соли, но и меньшей массой головки (11–18 по сравнению с 60–130 кг), что ускоряет проникновение соли во внутренние слои головки и вызывает ингибирование развития пропионовокислых бактерий на более ранних стадиях созревания сыра. Однако и в Советском сыре соль довольно медленно проникает во внутренние слои. Так, в 90-суточных сырах концентрация соли в водной фазе в центральных слоях была ниже, чем в слоях, прилегающих к поверхности головки, в зависимости от продолжительности посолки в 1,3–1,5 раза, а содержание пропионовокислых бактерий, наоборот, выше в 2,1–2,6 раза [1557]. Таким образом, пропионовокислые бактерии практически на всем протяжении созревания имеют возможность размножаться в центральных слоях Советского сыра даже с учетом высокой степени его посолки, однако неодинаковая скорость их развития в пределах головки влечет за собой и различия в органолептических показателях: степень выраженности сырного вкуса усиливается, а твердость сырного теста снижается по направлению от периферии к центру.

Большая интенсивность пропионовокислого брожения в Эмментальском сыре обусловливает его более выраженный вкус и аромат, но повышает

чувствительность к маслянокислому брожению, по сравнению с Советским сыром. Из крупных сыров, вырабатываемых в Швейцарии, Эмментальский обладает более выраженным специфическим для этого класса сыров вкусом и более развитым рисунком, чем Грюйер и Аппенцеллер [1025].

3.23. Интенсивность пропионовокислого брожения в Советском сыре в зависимости от уровня посолки [1554]

Время посолки, сут	Содержание NaCl, %		Макс. колич. пропионовокислых бактерий, 10^6/г	Содержание кислот, мг %		Отношение пропионовой к уксусн. кислоте
	в сыре	в водной фазе		пропионовой	уксусной	
3	1,2	3,13	91	215	245	0,88
5	1,4	3 55	60	201	231	0,87
7	1,7	4 28	25	151	187	0 81
9	2,0	5,04	10	83	141	0,59

Ингибирующее действие соли на пропионовокислые бактерии снижается при повышении pH и увеличении содержания влаги в сыре. В молоке с 4% NaCl пропионовокислые бактерии растут, но начинают образовывать CO_2 значительно позднее, чем в молоке без добавления соли [833].

Оптимальный pH для пропионовокислых бактерий равен 6,8–7,2, что намного выше pH крупных сыров (5,2–5,6), однако и в крупных сырах pH выше минимального для роста пропионовокислых бактерий [1556]. Влияние pH на развитие в Советском сыре пропионовокислых бактерий показано в опытах, проведенных в Алтайском филиале ВНИИМС [1554]. В опыте pH сыров регулировали степенью разбавления водой сыворотки после отбора 30% ее количества. Результаты этого опыта приведены в табл. 3.24. Перед помещением в бродильную камеру pH сыров II и III вариантов были выше pH контрольного сыра, во время выработки которого сыворотку не разбавляли водой, на 0,06 и 0,13 ед. соответственно. Количество пропионовокислых бактерий за период после окончания посолки и до момента выхода из бродильной камеры возросло в контрольных сырах в 63,6 раза, в сырах II варианта – в 200 раз и III варианта – в 236 раз. Содержание этих бактерий в период максимума в сырах I, II и III вариантов находилось в отношении 1:2:3.

Недиссоциированная молочная кислота ингибирует рост пропионовокислых бактерий, степень этого ингибирования зависит от штамма и вида пропионовокислых бактерий. При исследовании *P. jensenii P16* и *P. freudenreichii subsp. globosum P14*, выделенных соответственно из вспученного и нормального сыра Грана, молочная кислота значительно сильнее ингибировала штамм P14 [1721]. Основная масса пропионовокислых бактерий погибает при пастеризации молока; уцелевших после пастеризации клеток недостаточно для обеспечения нужного уровня пропионовокислого брожения в сыре. Достаточным количеством пропионовокислых бак-

терий в Советском сыре при нормальном технологическом процессе будет наличие в нем после прессования $(2–4)\cdot10^3$ КОЕ/г, что обеспечивается внесением в молоко после пастеризации 1–2 мл на 5000 л молока чистой культуры пропионовокислых бактерий или 1–2 тыс. КОЕ/мл [1432, 1556]. Следует, однако, отметить, что содержание пропионовокислых бактерий в Советском сыре в большей степени зависит не от их количества, вносимого в молоко, а от других факторов. В опытах Климовского с соавт. количество внесенных в молоко пропионовокислых бактерий для выработки сыров двух вариантов отличалось в 1800 раз, а максимальное их количество в сырах – только в 1,5 раза, хотя при использовании большей дозы максимум наступил намного раньше [1432].

3.24. Кислотность и содержание пропионовокислых бактерий в Советском сыре

Показатели	Количество воды, добавленной в сыворотку, % от количества смеси		
	0	10	20
Кислотность сыворотки в конце обработки зерна, °Т	15,00	13,20	13,20
pH: после прессования	5,39	5,42	5,50
3 сут	5,26	5,30	5,36
после посолки	5,28	5,36	5,40
перед парилкой	5,31	5,37	5,44
после парилки	5,36	5,47	5,52
90 сут	5,44	5,53	5,54
120 сут	5,47	5,57	5,61
Количество пропионовокислых бактерий в сырах, тыс. КОЕ/г			
после прессования	3,5	5,6	5,6
после посолки	4,4	3,0	3,6
после парилки	280	600	850
75 сут	103	385	230
90 сут	233	535	473

Приведенные выше данные о чувствительности пропионовокислых бактерий к содержанию в сырах соли и pH казалось бы свидетельствуют о том, что именно эти факторы должны играть главную роль в темпах развития пропионовокислых бактерий в Советском сыре. Однако в сырах должны быть и другие факторы, лимитирующие рост пропионовокислых бактерий. Если бы, например, концентрация соли в водной фазе сыра была единственным фактором, лимитирующим их рост, пропионовокислые бактерии прекращали бы размножаться в сырах в одно и то же время независимо от дозы их внесения, когда концентрация соли в центральных слоях превысит максимальную границу для их развития. В предыдущем опыте

количество жизнеспособных клеток пропионовокислых бактерий в варианте с высокой посевной дозой перестало увеличиваться в сыре в конце его выдержки в теплой камере (через 40 сут), когда концентрация соли в центральных слоях не бывает высокой, а в варианте с низкой посевной дозой их биомасса увеличивалась до конца созревания (100 сут), когда соль более равномерно распределяется в пределах головки [1432].

В 1-ый период созревания Советского сыра при температуре 10–12° С пропионовокислые бактерии практически не размножаются [308, 1432]. Не размножаются они в этот период и в Эмментальском сыре, хотя температура его созревания на первом этапе (12–14° С) несколько выше, чем в производстве Советского сыра. Ацетаты и пропионаты в Эмментальском сыре не образуются до его помещения в теплую камеру (рис. 3.10) [1025].

Климовский с соавт. отсутствие размножения пропионовокислых бактерий на первом этапе созревания объясняют низкой температурой и высокой скоростью кислотообразования микрофлорой закваски в этот период [1432]. Повышение температуры созревания сыров в бродильной камере (парилке) до 22–24° С призвано прежде всего обеспечить условия для роста пропионовокислых бактерий. Этому не противоречит часто наблюдаемое размножение пропионовокислых бактерий во время созревания сыра при 10–12° С после его выхода из бродильной камеры, так как pH сыров после парилки существенно повышается (табл. 3.34), а чувствительность пропионовокислых бактерий к низким температурам уменьшается с повышением pH. Однако объяснение Климовского с соавт. причин отсутствия размножения пропионовокислых бактерий в первый период созревания в прохладной камере недостаточно.

По данным итальянских ученых, пропионовокислые бактерии, выделенные из вспученных в результате их жизнедеятельности крупных сыров Пармиджано Регано и Грана Падано, размножались в сыре Грана, хотя и очень медленно, при комбинации трех факторов: температуры ниже 22° С, содержания более 2% соли и pH ниже 5,5 [144]. Во время предварительного созревания сыра при 10–12° С одной из причин отсутствия их размножения могут быть сублетальные повреждения клеток, полученные во время обработки зерна при температурах II нагревания, для устранения которых клетке необходимо определенное время. Кроме того, в этот период в сырах достаточно интенсивно размножаются цитратферментирующие мезофильные лактобациллы, многие из которых образуют нестойкие антибиотические вещества, которые могут ингибировать рост пропионовокислых бактерий [1308].

Некоторое увеличение продолжительности первого периода позволяет пропионовокислым бактериям полнее репарировать сублетальные повреждения клеток бактерий. К тому же, эта мера увеличивает биомассу мезофильных лактобацилл к моменту помещения сыров в теплую камеру, а следовательно, увеличивает количество энзимов в сырной массе, необходимых для созревания сыра. Увеличение количества этих

энзимов в сырной массе повышает скорость созревания и сокращает его продолжительность в Советском сыре на 25% [1558].

Кроме этого, в сырах в этот период немного повышается pH, что скорее всего обусловлено утилизацией цитратов лактобациллами. Таким образом, увеличение продолжительности первого периода созревания сыра в прохладной камере должно усилить влияние повышения температуры в бродильной камере на созревание сыра примерно в два раза.

В начальный период созревания в сыре недостаточно высоко содержание свободных аминокислот и низкомолекулярных продуктов протеолиза, стимулирующих рост пропионовокислых бактерий. Швейцарскими учеными было доказано, что внесение в молоко перед сычужным свертыванием микрококков оказывает сильнейшее стимулирующее действие на пропионовокислые бактерии: в опытном Эмментальском сыре в трехмесячном возрасте содержание пропионовокислых бактерий равнялось $(373–679)\cdot10^6$/г, в контрольном, вырабатываемом без применения микрококков, – $(239–356)\cdot10^6$ [896]. О более интенсивном развитии пропионовокислых бактерий в опытных сырах свидетельствует и тот факт, что pH этих сыров повысился до нормального уровня на две недели раньше, чем в контрольных (в крупных сырах pH во время созревания сыра повышается за счет сбраживания лактатов и протеолиза).

Интенсивность развития пропионовокислых бактерий зависит от сезона года [111, 308], что может быть связано с кормлением коров и изменениями состава и свойств молока на протяжении лактации. Так, повышение содержания ненасыщенных кислот в молочном жире в пастбищный период может ингибировать пропионовокислое брожение в крупных сырах.

В сыворотке, полученной при выработке сыров швейцарского типа, установлено наличие термолабильных, ингибирующих рост пропионовокислых бактерий веществ [1227]. Ингибирующее действие сыворотки нельзя было объяснить влиянием pH. Вполне возможно, что микрофлора закваски в период активного роста образует специфические по отношению к пропионовокислым бактериям антибиотические вещества, которые разрушаются в процессе дальнейшего созревания сыров. Увеличение посевной дозы болгарской палочки при выработке Швейцарского сыра с 0 до 2500 мл на 9080 л молока снизило содержание пропионовокислых бактерий в сыре при выходе из бродильной камеры в 3 раза, количество пропионовой кислоты в 1,1 раза, несмотря на увеличение продолжительности созревания в бродильной камере с 21 до 28 сут, однако содержание пролина увеличилось в 1,91 раза, повысилась и степень выраженности сырного вкуса [89, 1584]. Дальнейшее увеличение посевной дозы болгарской палочки уменьшило концентрацию пролина и выраженность сырного вкуса и вызвало пороки сыра (горький и кислый вкус).

Таким образом, в сырах могут действовать стимулирующие и ингибирующие рост пропионовокислых бактерий факторы, отличные от pH и концентрации соли, совокупность которых может подавить рост пропио-

новокислых бактерий в первый период созревания при прохладной температуре. Однако отсутствие размножения пропионовокислых бактерий в этот период не обязательно: в опытах А. Гудкова с соавт. пропионовокислые бактерии, хотя и медленно, но размножались на первом этапе созревания в сырах одной из 9 выработок [308]. Количество пропионовокислых бактерий в блочном Эмментальском сыре во время его созревания в первой прохладной камере систематически возрастало примерно на два порядка [1212]. Другими особенностями микробиологических и биохимических процессов в этом сыре, вырабатываемом на Пайденском молкомбинате в Эстонии, были размножение споровых аэробных палочек, интенсивный протеолиз в течение первых 10 сут, существенное повышение pH в период после прессования до помещения сыра в бродильную камеру (с 5,2 до 5,4). Авторы исследований этого сыра считают, что энергичный протеолиз создал благоприятные условия для размножения пропионовокислых бактерий на первом этапе созревания блочного Эмментальского сыра.

Протеолитическая активность пропионовокислых бактерий значительно меньше протеолитической активности микрофлоры закваски [1235], тем не менее они образуют пептидазы, вызывающие освобождение пролина, который участвует в формировании характерного для крупных сыров сладковатого вкуса [607]. Недостаточный протеолиз обусловливает формирование слабовыраженного сырного вкуса и излишне плотной консистенции, иногда – неравномерного рисунка, излишний протеолиз приводит к образованию перезрелого, слишком острого вкуса и крошливой консистенции [1025]. При образовании в крупных сырах большого количества низкомолекулярных продуктов протеолиза и слишком интенсивного развития пропионовокислых бактерий количество образуемого CO_2 увеличивается за счет декарбоксилирования, что приводит к формированию излишне развитого рисунка, образованию трещин и снижению стойкости в хранении сыра [1025].

Многие авторы считают, что излишнее развитие пропионовокислых бактерий может вызвать пороки в крупных сырах [129, 316, 707, 1024]. Так, во вспученном сыре Сбринц с крошливой консистенцией, самоколом, повышенным pH были обнаружены пропионовокислые бактерии в количестве 10^8–10^9 КОЕ/г [707]. Кроме них, в дефектных сырах было $4{,}6 \cdot 10^8$ КОЕ/г *E. faecalis* и $9{,}8 \cdot 10^8$ КОЕ/г *L. fermentum* против $7{,}6 \cdot 10^6$ и $3 \cdot 10^3$ КОЕ/г в сырах без пороков. Авторы работы делают вывод о том, что энтерококки стимулировали рост пропионовокислых бактерий, которые вместе с *L. fermentum* вызвали порчу сыров.

Пропионовокислые бактерии обладают более высокой липолитической активностью, чем молочнокислые бактерии, применяемые в производстве крупных сыров [1030], однако среди них имеются виды и штаммы с высокой и низкой липолитической активностью (табл. 3.1) [1236, 1559, 1710].

По мнению швейцарских ученых, излишний протеолиз в сырах, в частности повышенная активность лейцинаминопептидазы, интенсифицирует

развитие пропионовокислых бактерий и может привести к позднему вспучиванию сыра [1026]. Вспученные сыры Грюйер отличались от доброкачественных более интенсивным развитием пропионовокислых бактерий, более глубоким протеолизом, более высоким содержанием воды и пониженным содержанием соли [1024]. При этом остается неясным, сами ли пропионовокислые бактерии являются виновниками порчи сыра, или их излишне активное развитие коррелирует с развитием других бактерий и даже стимулирует их рост, в результате которого происходит порча сыра. Виновниками порчи могут быть, например, маслянокислые бактерии, условия для развития которых могут создавать пропионовокислые бактерии, снижая pH сыра. Маслянокислые бактерии, в отличие от пропионовокислых, кроме CO_2 образуют водород, который плохо растворим в сырной массе и может вызвать вспучивание сыров на фоне высокого давления CO_2 даже при небольших концентрациях. Вспучивание сыров могут также вызвать гетероферментативные лактобациллы, цитратсбраживающие мезофильные лактобациллы, в частности *L. plantarum* [1203].

Для предотвращения этого Швейцарский исследовательский молочный институт отобрал из диких штаммов пропионовокислых бактерий штаммы с пониженной скоростью развития в сырах [129]. В России подбором и производством бакпрепаратов и концентратов пропионовокислых бактерий для сыроделия занимаются лаборатория бактериальных препаратов и заквасок в Барнауле и, в меньшем объеме, Угличская экспериментальная биофабрика.

Развитие пропионовокислых бактерий в сырах с низкой температурой II нагревания до уровня более 10^5/г вызовет в нем появление несвойственного вкуса, что расценивается как порок [129].

3.4. Заключение

В созревании твердых и мягких сыров используют факультативно анаэробные микроорганизмы – молочнокислые и пропионовокислые бактерии. В производстве сыров с низкими температурами II нагревания традиционно используют лактококки и лейконостоки, сыров с высокими температурами II нагревания – термофильные лактобациллы и стрептококк, лактококки и пропионовокислые бактерии. В последние годы в производстве обоих классов сыров все чаще используют мезофильные лактобациллы. В сырах есть экологическая ниша для мезофильных лактобацилл, которую при отсутствии этих бактерий в составе заквасок занимают «дикие» штаммы лактобацилл, попадающие в сыры с сырым молоком или из окружающей среды. В зависимости от вида и индивидуальных свойств штаммов они могут ухудшать и улучшать качество сыра. Включение в состав заквасок специально отобранных штаммов мезофильных лактобацилл, обладающих ценными для сыроделия свойствами, в частности специфическим антагонизмом к технически вредной микрофлоре или расщепляющих горькие пептиды, вытесняет «дикие»

штаммы лактобацилл из сыра и повышает качество сыра. Успешное использование мезофильных лактобацилл возможно при тщательном отборе штаммов и точной дозировке их в составе закваски.

Селекцию пропионовокислых бактерий следует вести по устойчивости к концентрации соли, применяемой при выработке сыра, отсутствию газообразования при низких температурах. Очень важно, чтобы молочнокислые бактерии в закваскаx для крупных сыров не ингибировали рост пропионовокислых бактерий.

В твердых сырах имеются экологические ниши для энтерококков и педиококков. Роль педиококков в созревании сыров неясна; развитие энтерококков в сырах должно быть максимально ограничено путем поддержания оптимальной скорости молочнокислого брожения.

ГЛАВА 4

БАКТЕРИОФАГИ В СЫРОДЕЛИИ

4.1. Определение, строение, репродукция

Активность молочнокислой микрофлоры является одним из главных условий выработки сыра высокого качества как по органолептическим показателям, так и по показателям безопасности. Чаще всего причиной снижения активности микрофлоры заквасок является действие бактериофагов. На международном симпозиуме «Фаги в промышленной микробиологии» (Лейпциг, 1984) констатировано, что снижение активности молочнокислого брожения из-за действия бактериофагов наблюдается при выработке 5–15% ферментированных молочных продуктов [1069]. С увеличением степени концентрации производства повышается опасность снижения активности заквасок и возрастают потери из-за действия фага.

Бактериофаги – это вирусы, поражающие бактерии. Вирусами (от лат. «virus» – яд) вначале называли различные, малоизученные болезнетворные агенты. После открытия в 1892 г. Ивановским болезнетворных агентов, способных проходить через бактериальные фильтры, их стали называть «фильтрующимися вирусами», затем – просто вирусами. В современном значении *вирусы – это бесклеточные образования, содержащие одну ДНК или РНК, неспособные к самостоятельному размножению, репликация которых происходит в животных, растительных или бактериальных клетках, специфичных для каждого вируса хозяев.* Бактериофаги – вирусы, репродуцирующиеся в клетках бактерий. Репликация бактериофага ведет к гибели клетки-хозяина. Отдельные частицы вирусов, способные проникать в клетку-хозяина и использовать аппарат клетки для собственной репликации, называют *вирионами.* Бактериофаги часто называют просто *фагами.* В световой микроскоп вирусы не видно.

Бактериофаги состоят из *головки*, представляющей собой нуклеиновую кислоту, окруженную белковой оболочкой (*капсидом*) и отростка (*хвоста*). Отросток некоторых фагов имеет сложное строение: например, у фага Т2 кишечной палочки он состоит из полого стержня и окружающего его чехла, а у некоторых фагов – также из базальной пластинки с шипами и нитями [1762]. Чехол бывает сократимым и несократимым.

Базальная пластинка с шипами и нитями находится на конце отростка. У некоторых фагов в месте соединения отростка с головкой имеются выросты, называемые *воротничком.* Размеры и форма головки и отростка у различных фагов неодинаковы, что служит основанием для их разделения на группы.

Репликация бактериофагов в клетке хозяина – процесс сложный, но достаточно хорошо изученный. Бактериофаги, как и все вирусы, неподвижны и находятся в жидкой среде во взвешенном состоянии. Для раз-

множения им нужно адсорбироваться на бактериальной клетке, в которой может происходить их репликация, т. е. на клетке-хозяине. Адсорбция осуществляется отростком фага или с помощью шипов и нитей базальной пластинки. Адсорбция на клетке-хозяине – *первый этап репродукции бактериофагов.* Адсорбция может произойти только при наличии на поверхности бактериальной клетки так называемых рецепторов. Рецепторы чаще располагаются в отдельных точках поверхности клетки, иногда равномерно по всей поверхности [130]. Для каждого фага нужны специфические рецепторы, которые могут быть, а могут и не быть на поверхности клеток того или иного вида и штамма бактерий, что является одной из причин специфичности фага, характеризуемой *литическим спектром*, под которым подразумевается перечень видов и штаммов бактерий, в которых данный фаг может размножаться. Как правило, фаг обладает способностью адсорбироваться на тех штаммах, в которых может происходить его репликация, но иногда он адсорбируется на клетках неродственных хозяину микроорганизмов без последующей репликации. Бактериофаги обычно (но не всегда) специфичны к виду, однако способны лизировать несколько штаммов вида своего бактериального хозяина.

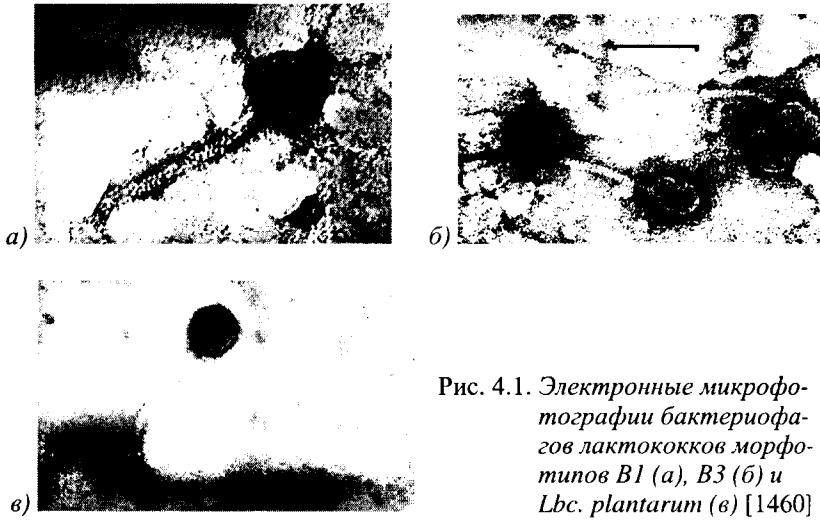


Рис. 4.1. *Электронные микрофотографии бактериофагов лактококков морфотипов B1 (а), B3 (б) и Lbc. plantarum (в)* [1460]

Адсорбировавшиеся на поверхности бактериальных клеток-хозяев фаги при помощи своих энзимов проделывают в клеточной стенке отверстие, в которое входит полый стержень, через него впрыскивается внутрь клетки-хозяина нуклеиновая кислота фага, хранившаяся в его головке. Инъекция генома фага в клетку-хозяина – *второй этап литического цикла фагов.* В клетку-хозяина вводится только геном фага, ба-

зальная пластинка остается на поверхности клетки. У фага до инъекции генетического материала в клетку-хозяина головка очень резко выделяется на электронно-плотном слое и чехол отростка вытянут, после инъекции головка мало отличается от фона по плотности и чехол находится в сжатом виде. Большинство бактериофагов молочнокислых лактококков могут внедрить свой геном в клетки хозяев только при наличии в среде Ca^{2+} [558]. После инъекции нуклеиновой кислоты фаг как организованная морфологическая единица перестает существовать.

После инъекции нуклеиновой кислоты в клетке-хозяине синтез бактериальных белков и нуклеиновых кислот прекращается, и биосинтетический аппарат клетки начинает синтезировать *компоненты фага*: сначала *нуклеиновую кислоту*, позднее – *белки оболочки* и *лизоцимы* или *эндолизины*. Видимых изменений в кислотообразующей активности клеток молочнокислых бактерий, пораженных бактериофагом, в этот период нет, или она несколько повышается. Этот период называется *латентным* (скрытым).

Следующий этап заключается в формировании (сборке) внутри клетки новых частиц фага. После того как частицы фага сформированы, наступает заключительный этап: стенки клетки-хозяина лизируются, фаговые частицы выходят наружу, а клетка погибает. На рис. 4.3 показана клетка лактококка с сформированными внутри ее частицами фага непосредственно перед лизисом.



Рис. 4.2. *Электронная микрофотография клетки лактобациллы с адсорбированными на ее поверхности бактериофагами (И. Т. Смыков, ВНИИМС)*

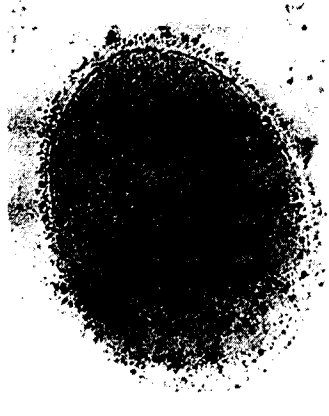


Рис. 4.3. *Ультратонкий срез клетки лактококка с сформированными внутри ее частицами фага (И. Т. Смыков, ВНИИМС)*

Описанный цикл репродукции фага называют *литическим* (или *продуктивным*) *циклом*. Он характеризуется скоростью адсорбции, продолжительностью латентного периода и урожаем (выходом) фаговых частиц. Бактериофаги, лизирующие зараженные ими клетки, называют *вирулентными*.

У бактериальных клеток имеется три внутриклеточных механизма защиты от фага [558, 1072]:

- система рестрикции/модификации;
- предотвращение адсорбции;
- ингибирование репликации фага.

Рестрикция (ограничение репродукции фага) заключается в расщеплении фаговой ДНК специфичными энзимами – *рестрикционными эндонуклеазами*, образуемыми клетками штамма-хозяина. Для того чтобы эндонуклеазы не смогли атаковать ДНК хозяина, последняя модифицируется. *Модификация* заключается в метилировании или глюкозилировании определенных оснований ДНК. К сожалению, модифицироваться, а следовательно, становиться недоступной для рестриктаз, может и ДНК фага.

Синтез рестриктаз и специфических рецепторов может кодироваться не только геномом бактерии, но и плазмидами, которые могут сравнительно легко теряться и приобретаться клетками, что ведет к изменению чувствительности штаммов к бактериофагам [925].

Потеря клеткой способности синтезировать те или иные рецепторы делает ее устойчивой к соответствующему бактериофагу (фагам). У некоторых систем фаг-хозяин репликация фагов прекращается при температурах, ниже максимальных для размножения хозяина, в частности для лактококков при 38–40° С и даже при 36–38° С [756].

Иногда проникновение генома фага в клетку не сопровождается образованием внутри нее вирионов, клетка лизируется без выделения в среду новых частиц фага. Это явление получило название абортивной инфекции. Абортивную инфекцию рассматривают как одну из защитных систем штамма.

Некоторые фаги заражают клетки хозяина, но не размножаются в них и не вызывают лизиса клеток. Такие фаги называют *умеренными*, клетки, несущие умеренные фаги, называют *лизогенными*, а само явление называют *лизогенией*. Умеренные фаги в лизогенной клетке находятся в состоянии *профага* – носителя генетической информации, необходимой для их синтеза, локализуемой в бактериальной хромосоме и передающейся дочерним клеткам. Профаги размножаются синхронно с культурой, но иногда равновесие между профагом и бактериальной клеткой нарушается, фаговая хромосома вступает в обычный литический цикл, начинается репродукция фага, в конце которой клетка лизируется и умеренный фаг выходит наружу [1187]. Обычно это бывает после того, как лизогенная культура подверглась какому-либо стрессу. При этом другие клетки остаются резистентными к этому фагу, т. е. ли-

зогенное состояние культуры в целом сохраняется. Вследствие этого в лизогенной культуре всегда имеются свободные, умеренные для нее фаги. Если в популяции кроме лизогенной находятся другие культуры, чувствительные к находящемуся в ней умеренному фагу, то они будут им лизироваться. Для этих культур умеренный фаг является вирулентным. Такие культуры называют *индикаторными*. С их помощью определяют лизогенность культур.

Существует множественная лизогения, когда в клетке имеются профаги нескольких умеренных фагов. Так, штамм молочного лактококка ML_8 является лизогенным для трех морфологически различных фагов [1776]. Такие культуры особенно опасны для производства.

Многие авторы считают, что большинство культур являются лизогенными, но это далеко не всегда удается выявить, так как для выявления лизогенности нужны каждый раз соответствующие индикаторные штаммы, которые встречаются довольно редко [417, 1072, 1514].

Спонтанно лизогенные культуры лизируются присутствующими в них умеренными фагами редко: обычно один раз на 10^7 делений [460]. Однако целый ряд факторов (УФ облучение, митомицин С, ионизирующее излучение, алкилирующие агенты) может индуцировать превращение профага в лизогенной клетке в умеренный фаг и высвобождение последнего в среду.

Спонтанная частота потери лизогенной клеткой профага («исцеления») составляет около 10^{-6}. Ее можно увеличить УФ облучением.

4.2. Основные свойства бактериофагов лактококков

Для сыроделия наиболее важны бактериофаги лактококков – лактококкофаги (ЛФ). Всего идентифицировано 11 морфологически различных типов ЛФ [1477]. По Teuber, наиболее часто встречаются четыре типа ЛФ [1070]:

- фаги с пролатной (вытянутой) головкой (тип P001);
- с маленькой изометрической головкой с размером ДНК от 18 до 20 МДа (тип P008);
- с маленькой изометрической головкой, размером ДНК 22–25 МДа (тип P335);
- с большой изометрической головкой (тип P026).

Менее часто встречающиеся фаги характеризуются морфологическим разнообразием, касающимся воротничка, базальной пластинки, отростка.

Во ВНИИМС создана коллекция ЛФ [1460, 1594, 1678]. Изучение морфологии 165 ЛФ показало, что все фаги имеют длинные несократимые хвостовые отростки, т. е. относятся к группе B по Бредли [115, 1206]. 30 фагов имеют изометрическую головку, характерную для вида 936 подгруппы B1 по Аккерману; остальные имеют головки меньшего размера и удлиненной формы, что соответствует виду C2 подгруппы B2

[10]. Эти бактериофаги, типовыми для которых являются фаги P008 и P001 по Тойберу, доминируют среди фагов, циркулирующих в других странах [1075]. Два фага по морфологии близки к фагу P087 и 5 – к виду K_1 [1207]. Фаги типа P335, широко распространенные за рубежом, среди коллекционных фагов ВНИИМС не обнаружены.

По морфологическим характеристикам группу ЛФ B1 можно разделить на 4 подгруппы, имеющие следующие размеры диаметра капсида и длины хвостового отростка (нм): B1-1 – 56±5 и 136±12; B1-2 – 58±4 и 150±13; B1-3 – 65±2 и 200±15; B1-3 – 70±2 и 255±15 (Перфильев, 1998). 62,2% изученных фагов принадлежали к подгруппе B1-1; 21,6% – к B 1-2; 5,7% – к B1-3 и 10,5% – к B1-4. В России более распространены фаги B2, за рубежом – B1. Специфичность генома фагов B1-3 и B1-4 подтверждена методом прямой гибридизации ДНК/ДНК.

Изученные ЛФ имели различные спектры хозяев, что, наряду с результатами рестрикционного анализа, свидетельствует об отсутствии среди них повторных изолятов. Результаты изучения спектра действия с использованием в качестве тест-культур производственных штаммов НПО «Углич» показаны в табл. 4.1 [1594]. Только несколько проверенных фагов лизировали по одному штамму лактококков, остальные фаги оказались поливалентными.

4.1. Распределение фагов по ширине литического спектра

% фагов	Количество лизируемых штаммов, % от проверенных (637 штаммов)
34,1	1–5
24,8	6–10
10,8	11–15
3,4	16–20
2,9	21–25
2,8	26–30
2,8	31–35
1,0	36–40
0,3	41–45
0,3	46–50

Исследования 1979 г. показали, что 30,8% фагов из коллекции ВНИИМС лизировали все 3 подвида лактококков [1295]. Проверка литического спектра коллекционных фагов в 1997 г. выявила 67,2% таких фагов; 29% фагов лизировали по два подвида и только 3,8% лизировали по одному подвиду [1594]. Это свидетельствует, с одной стороны, о правильности объединения лактококков в один вид, с другой стороны, о повышении чувствительности к фагу производственных штаммов лактококков, использованных в качестве тест-культур для определения литического спектра бактериофагов. Подвиды лактококков в составе заквасок длительное время культивируются совместно, что не исключает

возможности обмена между ними и их фагами генетическим материалом с возникновением фагов с новыми более широкими спектрами литической активности.

Особую опасность представляют фаги, способные лизировать до 50% испытанных штаммов лактококков, несмотря на их небольшое количество. Выделены они на заводах, на которых была неблагополучная фаговая ситуация и, как следствие, вырабатывались сыры низкого качества. Ранее украинские ученые отмечали, что фаги, обнаруживаемые на таких заводах, обладают более широким литическим спектром и повышенной вирулентностью, фиксируемой по скорости лизиса клеток хозяина, по сравнению с фагами, обнаруживаемыми на молочных фермах и молокоприемных пунктах [1268]. Отсутствие узкой специфичности у многих фагов, разнообразие и высокая изменчивость спектров их литической активности представляют громадную угрозу сыроделию. Считается, что частота мутаций фагов, вызывающих изменение спектра литического действия, равняется 10^{-8}–10^{-9}, изменение скорости лизиса бактериальных хозяев – 10^{-3} [130, 1187]. Обнаружен фаг лактококков, образующий мутант с расширенным спектром действия с частотой $5 \cdot 10^{-6}$ [1776].

4.2. Чувствительность штаммов лактококков к бактериофагам **[1306]**

Группа	Количество штаммов лактококков		Количество фагов, лизирующих каждый штамм лактококков	
	ед.	%	ед.	% от общего
I	8	22,8	0–1	0–1,6
II	10	28,6	2–3	3,2–4,8
III	4	11,4	4–5	6,4–8,0
IV	4	11,4	6–10	9,6–16
V	1	2,8	11–15	17,6–24
VI	4	11,4	16–20	25,6–32
VII	4	11,4	21–35	33,6–56

Неодинакова чувствительность к бактериофагам и у производственных штаммов лактококков, о чем говорят результаты исследований, представленные в табл. 4.2 [1354]. Более половины проверенных штаммов (62,8%) лизировались 0–5% испытанных фагов, 8 штаммов лизировались 16–35 фагами из 65 проверенных. Протасова спустя 19 лет проверила чувствительность к бактериофагам 586 производственных штаммов лактококков [1594]. В ее опытах не обладали чувствительностью ни к одному коллекционному фагу 50,6% проверенных штаммов молочного, 53,8% диацетильного и 60,7% сливочного лактококков. Это значительно больше, чем в опытах Докукина с соавт. [1354], что, по-видимому, обусловлено включением в состав производственных штаммов фагоустойчивых мутантов, полученных в отделе микробиологии ВНИИМС. Второй особенностью ее результатов является наличие среди исследованных культур штаммов, лизируемых 50 – более 70% коллекционных фагов, ко-

торые не были обнаружены в опытах Докукина с соавт. [1354]. Высокочувствительные к бактериофагам штаммы, по результатам опытов Протасовой, составили 4,1% среди штаммов молочного, 4,7% диацетильного и 2,8% сливочного лактококков.

У лактококков системы устойчивости к бактериофагам кодируются плазмидной и частично хромосомной ДНК [558, 1069, 1072]. Полученные данные свидетельствуют о чрезвычайно высокой генетической изменчивости как хромосомных, так и плазмидных компонентов геномов лактококков [1208].

Ясно, что включение в закваски штаммов, чувствительных к большому числу фагов, приведет к быстрому их лизису на производстве, что, учитывая способность фага к спонтанным мутациям с изменением спектра литического действия, может привести к лизису и других штаммов, входящих в закваску. В то же время, для определения чувствительности штаммов лактококков к бактериофагам при их селекции в состав заквасок необходимо использовать фаги с максимально широкими спектрами литического действия. Из этих штаммов лактококков следует также формировать набор для мониторинга фагов на сырзаводах.

Литический тип взаимодействия фагов с бактериальными клетками характеризуется скоростью адсорбции фага, продолжительностью латентного периода, т. е. промежутком времени между адсорбцией и лизисом бактериальной клетки, и урожаем (выходом) фага.

Адсорбцию фага можно определить количественно по разности между количеством вирионов, внесенных в бактериальную культуру, и количеством в ней вирионов до момента окончания литического цикла, при этом продолжительность литического цикла можно увеличить, понизив температуру культивирования. Количество вирионов определяют по числу негативных колоний на газоне штамма-хозяина (фаги, адсорбированные исследуемой культурой, негативные колонии перестают образовывать). Процесс адсорбции бактериофага подчиняется уравнению [1187]:

$$P_Ф/P_0 = e^{-KBt}, \qquad (4.1)$$

где $P_Ф$ — концентрация свободного фага в расчете на см^3, P_0 – исходная концентрация фага, В – концентрация бактерий, К – константа скорости адсорбции (см^3 · мин$^{-1}$), t – время в мин.

Константа скорости адсорбции ЛФ варьирует в интервале от 0,51 до 32,5 $\cdot 10^{-10}$, продолжительность латентного периода при 30° С – от 22 до 60 мин, выход частиц фага – от 34 до 328 [786, 1074, 1295]. Скорость адсорбции снижается при внесении в молоко сычужного порошка, но не чистого химозина.

Продолжительность латентного периода увеличивается при снижении температуры культивирования с 37 до 22° С, что коррелирует со снижением скорости размножения лактококков. Следовательно, скорость лизиса бактериальных клеток в системах фаг-хозяин будет далеко не оди-

наковой [1295]. Некоторые штаммы лизируются фагом с такой силой, что в месте его действия на газоне остается совершенно прозрачная зона [1354]. Возможно, отдельные клетки в популяции таких штаммов оказались резистентными к этому фагу, но они не успевают образовывать видимые колонии за время выдержки. У других штаммов при действии этого же фага в пределах прозрачной зоны вырастают точечные колонии фагорезистентных мутантов. У некоторых штаммов в зоне лизиса сохраняются участки сплошного роста. Скорости лизиса фагом разных штаммов могут различаться в тысячи и десятки тысяч раз [1206].

В состав бактериальных заквасок необходимо включать штаммы лактококков не только чувствительные к минимальному количеству фагов, но имеющие наименьшие скорости лизиса фагами-гомологами. Однако даже при небольших скоростях лизиса скорость репродукции бактериофагов выше, чем размножения его бактериального хозяина. Пусть в системе фаг-хозяин продолжительность латентного периода равняется 30 мин, выход фага – 40 вирионам, время генерации лактококка – 30 мин. В этом случае через 1,5 ч количество клеток хозяина из одной бактериальной клетки может увеличиться в 8 раз, количество вирионов из одного вириона – в 64000 раз. Если фаг, способный лизировать клетки микрофлоры одноштаммовой закваски, попадет в молоко в начале приготовления производственной закваски даже в таком небольшом количестве, как один вирион/мл, то этого будет достаточно для того, чтобы закваска полностью потеряла активность к концу культивирования.

Обычно минимальные, максимальные и оптимальные температуры для репликации фагов совпадают с этими температурами для хозяев, но не всегда: некоторые фаги имеют более низкую максимальную температуру, чем хозяин [995]. Выделяют три группы ЛФ, максимальные температуры для репликации которых равны (°С): 34–36; 36–38; 38–40 [756].

Есть фаги, не размножающиеся при 27° С [539]. У систем хозяин-фаг, оптимальная температура репликации фага в которых равна 38° С, снижение температуры культивирования с 38 до 31° С не изменило выход фага, но увеличило продолжительность латентного периода с 30 до 70 мин [269].

Инактивация фагов при нагревании идет согласно уравнению:

$$P/P_0 = e^{-K_T t}, \qquad (4.2)$$

где P_0 и P – содержание бактериофага до и после нагревания при температуре T °С в течение t, мин; K_T – константа скорости термоинактивации при температуре T, мин$^{-1}$ [417].

$K_{70°C} \cdot 10^3$ для 10 из наиболее терморезистентных фагов находится в интервале 558–665, для 7 – 176–229 мин$^{-1}$. При 70° С для снижения титра наиболее терморезистентных ЛФ в гидролизованном молоке на 5 порядков нужна выдержка в течение 50–63 мин, в то же время 17 наиболее термолабильных фагов при этой температуре погибали практически мгновенно [1305]. По Цаневой, наиболее термостойкие ЛФ выдерживают нагревание до 74° С в течение 10 мин, наименее стойкие поги-

бают при 62–66° С в течение этого же времени [1735]. В молоке устойчивость к тепловой обработке ЛФ несколько повышается. Следовательно, при обычной пастеризации молока в сыроделии (72° С, 15–25 с) будет уничтожена только часть бактериофагов лактококков (при такой обработке титр терморезистентных бактериофагов в молоке снижается на 1–2 порядка). Молоко для приготовления производственных заквасок на сыродельных заводах пастеризуют при 95° С в течение 10–30 мин или стерилизуют. При 95° С за 10 мин инактивировались все имеющиеся в коллекции ВНИИМС бактериофаги лактококков при исходном содержании 10^6 мл$^{-1}$ [1305]. В подсырных сливках полная инактивация ЛФ наступала при 95° С за 5 мин. Повышение концентрации ионов Са и Mg увеличивает, а Na и К – снижает термоустойчивость фагов [1187]. У фагов могут появиться мутанты, отличающиеся от родительского фага по термоустойчивости в 1000 раз [1187].

При изучении чувствительности ЛФ к УФ их суспензию в фосфатном буфере с начальным содержанием (1–4) $\cdot 10^6$ частиц/мл облучали БУФ 30 (длина волны 2357 Å), расположенной на расстоянии 40 см. Инактивация фагов в этом опыте шла по уравнению 4.2, где: P и P_0 – титры фага после и до облучения в течение t, c, K – константа скорости инактивации.

$K \cdot 10^3$ для изученных фагов в этом опыте изменялась от 10,8 до 55,52 с$^{-1}$, т. е. в несколько более узких пределах, чем константа термоактивации. Фаги обладают достаточно высокой чувствительностью к УФ облучению: содержание даже наиболее устойчивого к УФ фага за 60 с снижалось более чем на два порядка. В промышленных условиях невозможно расположить источники УФ на расстоянии не более 40 см от обрабатываемых объектов, однако увеличение расстояния может компенсироваться увеличением продолжительности облучения. Для проверки этого был поставлен второй опыт, в качестве источника УФ в котором была взята БУФ 60, расстояние до облучаемого объекта увеличено до 2 м, продолжительность облучения – до 60 мин. Результаты этого опыта представлены на рис 4.4 [1355]. В воздушной среде инактивация фагов шла намного быстрее: они погибают в результате 25-минутного облучения при длине волны 2357 Å [199]. Однако, в опытах Протасовой бактериофаги не были полностью уничтожены даже после 48 ч УФ облучения [1594].

Santer считает, что источник УФ лучей можно помещать не в заквасочной, а в камере, через которую циркулирует воздух из заквасочной, или вмонтировать в вентиляционную систему [930].

Перекисно-каталазная обработка оказала незначительное действие на бактериофаги: за 4 ч в бульоне с 0,3% перекиси водорода содержание бактериофагов снизилось только в 1,5–2,0 раза [1305].

Мощным инактивирующим действием на бактериофаги обладает хлорная известь (рис. 4.5) [1355]. В 1 %-ном растворе хлорной извести титр бактериофага через час уменьшается в десятки тысяч раз, через сутки – в сотни тысяч раз; в 10 %-ном ее растворе уже через 5 мин фаги нельзя обнаружить даже качественно.

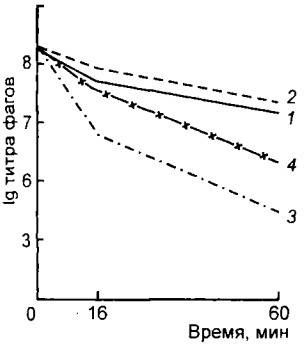


Рис. 4.4. *Инактивация бактериофагов лактококков УФ в молоке (1, 2) и бульоне (3, 4) на расстоянии 0,4 (1, 3) и 2,0 м (2, 4)* [1355]

Этиловый спирт начинает действовать на бактериофаги при концентрациях выше 50% [1355].

Для дезактивации ЛФ рекомендуются синтетические моющие средства Вимол и Триас в концентрации 0,5–1,0% с двухминутной продолжительностью контакта их растворов с обрабатываемыми поверхностями при 60–70° С и десятиминутной при 40–50° С [1306].

Шесть фагов лактококков были инактивированы за 10 мин при 20° С в водных растворах 0,6% формальдегида, 0,5% гипохлорита натрия, 0,2% хлорамина, 3% фенола, 1% дихлорфенола и 0,5% средства на основе перуксусной кислоты [639]. Хлорамин и гипохлорит натрия в этих концентрациях через 10 мин снижал содержание фагов на 7–8 порядков [639]. 6% H_2O_2, щелочная среда (pH 11,0), кислая среда (pH 2,0) за 1–2 ч экспозиции снижали содержание фагов только на 1–2 порядка. В присутствии молока или сыворотки скорость инактивации снижалась. 45–4500 мг/кг активного хлора не могли дезактивировать фаг в молочном сгустке при 20° С за 30 мин. Эти фаги были защищены коагулированным казеином. В хлорсодержащих растворах без органических веществ 300–500 мг/л активного хлора полностью уничтожали бактериофаги лактококков за 1–5 мин [1268, 1376].

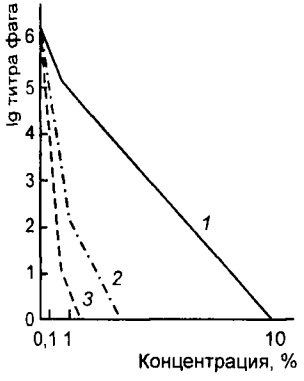


Рис. 4.5. *Инактивация ЛФ в 10% растворе хлорной извести при выдержке: 1 – 5 мин, 2 – 1 ч, 3 – 24 ч*

Противоречивы данные о влиянии цитратов на бактериофаги лактококков. В опытах Докукина цитраты в концентрации до 3% снизили титр фагов примерно на порядок, причем увеличение продолжительности экспозиции с 5 мин до суток почти не повлияло на степень инактивации фагов [1355]. По данным Мытник, 0,5 и 1,0% цитратов снизили титр фагов соответственно на 1 и 3 порядка.

4.3. Источники бактериофагов

Источники бактериофагов на сыродельных заводах целесообразно разделить на внешние и внутренние. Основным внешним источником фагов является сырое молоко. Сырое молоко всегда содержит лактококки, которые в той или иной степени в нем размножаются, следовательно, в сыром молоке всегда есть бактериофаги лактококков. Более того, в сыром молоке некоторые фаги размножаются гораздо быстрее, чем в том же молоке после пастеризации [459]. Выше показано, что допустимые в сыроделии режимы пастеризации недостаточны для полного уничтожения бактериофагов лактококков, следовательно, часть ЛФ сырого молока попадет вместе с пастеризованным в сырную ванну. Кроме этого, сырое молоко может загрязнять бактериофагами окружающую среду на сыродельных заводах, из которой фаги будут попадать в сырную ванну. Так, ЛФ обнаруживались в 13–20% образцов пастеризованного при 73° С в течение 20–25 с молока сразу после пастеризации и в 53–100% пастеризованного молока при поступлении в сыродельную ванну [1070]. Сырое молоко является постоянным и достаточно значительным источником бактериофагов лактококков на сыродельных заводах.

Количество бактериофагов в сыром молоке тем выше, чем сильнее оно загрязнено микроорганизмами, а также весной и осенью [619, 626]. Причины более высокого обсеменения бактериофагами молока весной и осенью неясны; любопытно, что такая же тенденция с содержанием фагов немолочнокислых бактерий в почве и сточных водах [223]. Возможно, снижение активности заквасок, часто наблюдаемое в весеннем и осеннем молоке, обусловлено обильным обсеменением молока в этот период бактериофагами.

Бактериофаги размножаются во время созревания молока: их количество может увеличиться в два раза через 3,5 ч [770]. Martley et al. нашли, что если в молоко, созревающее с добавлением закваски, попадет больше 10 частиц/мл фагов, способных лизировать микрофлору закваски, то через 24 ч созревания это молоко после пастеризации не обеспечивает нужную скорость кислотообразования при выработке Камамбера [696]. Отсюда следует вывод, что необходимо применять различные закваски: для созревания молока и для выработки сыра из этого молока.

Применение непастеризованной сыворотки для силосования кормов может повысить содержание фагов лактококков в силосе и сыром молоке, увеличить обсемененность фагами молока может и расположение молокоприемных пунктов с подветренной стороны скотных дворов.

Вторым внешним источником бактериофагов лактококков могут быть сухие или жидкие закваски и бактериальные концентраты при попадании в них лизогенных культур. Лизогенность обнаружена у большей части штаммов лактококков [1076]. Некоторые лизогенные культуры спонтанно образуют до 10^4 вирионов/мл [626]. В сыроделии, как правило, применяют поливидовые и многоштаммовые закваски. Попадание в закваску хотя бы одной лизогенной культуры может вызвать лизис других культур, если они окажутся чувствительными (индикаторными) к умеренному фагу, выделяемому лизогенной культурой.

Фаги могут попадать на заводы из внешней среды с воздухом, пылью, водой, персоналом и посетителями.

Определение спектра литического действия бактериофагов, выделенных из пастеризованного молока, закваски и сычужного сгустка, показало, что из 15 фагов, обнаруженных в сгустке, только 3 имели одинаковый спектр с бактериофагами из пастеризованного молока и 2 фага присутствовали одновременно в сгустке и закваске [1320]. Следовательно, 10 из 15 фагов на обследованном заводе попали в сгусток не из закваски и пастеризованного молока, а из окружающей среды на заводе.

При выработке сыра всегда идет репродукция бактериофага даже при нормальном нарастании кислотности и накоплении биомассы микрофлоры закваски [1295, 1514]. Это обусловлено тем, что в многоштаммовых заквасках лизис бактериофагом одного штамма лактококков, если он не является доминантным, не оказывает видимого действия на активность закваски в целом. Кроме этого, популяции клеток штаммов, устойчивых к какому-либо фагу, обычно неоднородны; около 1% их клеток чувствительны к данному фагу [130, 1032]. Спонтанное появление в популяции фагорезистентного штамма лактококка фагочувствительных клеток обусловлено потерей клетками плазмиды, на которой закодирована устойчивость к фагу. Лизис 1% клеток не окажет заметного влияния на активность штамма в целом, но приведет к увеличению содержания фага в сгустке и сыворотке. Титр фага в сыворотке может увеличиться по сравнению с титром в исходной смеси на несколько порядков и достигать 10^6–10^{10} вирионов/мл [460, 1629, 1641]. С капельками сыворотки, а также в процессе переработки сыворотки, фаги, размножившиеся во время выработки сыров, будут распространяться по воздуху на заводе и при низком уровне гигиены могут начать постоянно циркулировать на предприятии. Они могут размножаться в плохо вымытых и продезинфицированных молокопроводах, оборудовании, инвентаре, в остатках молока на полу, особенно при наличии в нем выбоин, трещин, на стенах, т. е. везде, где размножаются хозяева фагов.

При транспортировке непастеризованной сыворотки фагами заражаются молокоцистерны и фляги, а через них и сырое молоко. Особенно опасно попадание фагов в молоко для приготовления производственной закваски, так как во время приготовления закваски создаются идеальные условия для репродукции фага, а размножившиеся в закваске фаги вместе

с закваской сразу попадают в сырную ванну. Чем ниже уровень гигиены, тем выше опасность потери активности закваски в результате действия бактериофага. Систематическое и квалифицированное проведение фагового мониторинга, жесткий контроль производства в критических точках – необходимые условия стабильного производства сыров высокого качества. Важнейшим условием является превращение помещений, в которых готовят закваски, в зону, свободную от бактериофага.

4.4. Особенности действия бактериофагов в сыроделии

Чистые культуры лактобактерий в молоке, инфицированном вирулентными для них фагами, вначале развиваются без видимых отклонений от нормы. Через 2–4 ч большинство бактериальных клеток лизируется, и нарастание кислотности приостанавливается. После определенной выдержки кислотность снова начинает расти (так называемый «вторичный рост») за счет фагорезистентных мутантов, которые практически всегда есть в популяции чувствительных к фагу штаммов. Свертывание молока лактококком при 30° С и 5 %-ном инокулировании в присутствии фага-гомолога происходит не через 5–7 ч, а через 20–36 ч, причем клетки в сгустке будут представлять главным образом не исходный штамм, а его спонтанные фагорезистентные мутанты.

При приготовлении многовидовых и многоштаммовых заквасок полная остановка нарастания кислотности молока может произойти при одновременном заражении закваски фагами, способными лизировать все входящие в ее состав виды и штаммы лактобактерий с достаточно высокой скоростью кислотообразования в молоке, что бывает редко. Чаще всего поражается один или несколько таких штаммов, что ведет к снижению кислотности закваски в конце ее культивирования в течение обычного промежутка времени. Такая закваска должна сниматься с производства даже при небольшом снижении ее кислотности, так как она содержит большое количество вирионов, среди которых могут появиться или уже появились мутанты, способные лизировать другие штаммы, входящие в состав закваски. Для того чтобы не остановить производство сыра, предприятие должно иметь бактериальные концентраты, пригодные для непосредственного внесения в смесь для выработки сыра или для приготовления производственной закваски ускоренными способами.

При загрязнении фагами, лизирующими газообразующую микрофлору, закваски перестают образовывать диацетил и CO_2 и становятся непригодными для выработки сыров с правильным рисунком. Это маловероятно для заквасок, в состав которых входят лейконостоки, поскольку фаги лейконостоков редко обнаруживаются на сыродельных предприятиях, а активное размножение лейконостоков во время выработки сыра начинается уже в сформованном сыре, когда фагам труднее вступить в контакт с клетками возможного хозяина.

Инфицирование фагами может произойти в сырной ванне. В этом случае фаг не окажет влияния на свертывание молока в производстве сычужных сыров, в котором микрофлора участия не принимает.

Для выявления действия фага на микробиологические процессы и качество сыров были проведены выработки Костромского сыра на закваске, в состав которой было включено по одному штамму каждого подвида лактококков. В первой серии в смесь для выработки сыра в каждом варианте вносили фаги только к одному штамму, различия в вариантах были небольшие. Во второй серии в смесь I варианта вносили фаги-гомологи к штаммам молочного и сливочного лактококков, II варианта – ко всем трем подвидам, в смесь для III варианта (контроль) фаги не вносили [1296]. Некоторые показатели опытных сыров приведены в табл. 4.3. Фаговая инфекция в опытных сырах (3–150 тыс. вирионов/мл) начала проявляться к концу обработки зерна, что выражалось в несколько меньшей кислотности сыворотки в опытных вариантах. Однако pH сырной массы перед формованием был во всех вариантах одинаковым. Резкое падение скорости кислотообразования в опытных сырах началось во время прессования сыров; pH опытных сыров был на 0,55 ед. выше, чем в контрольных. Существенные различия в pH опытных и контрольных сыров сохранялись вплоть до 10-суточного возраста. Лактоза в контрольных сырах была сброжена к 5-суточному возрасту, тогда как в опытных сырах в этом возрасте ее оставалось 0,115–0,150 г%. Остается неясным, почему pH в опытных сырах II варианта, в смесь для выработки которых добавляли фаги ко всем штаммам закваски, снижался несколько быстрее, чем в сырах I варианта, в смеси которого не было фагов к диацетильному лактококку. Возможно, в сырах II варианта больше осталось несброженной лактозы после прессования сыра, в результате чего при ее сбраживании в более поздние сроки вся образующаяся из этой лактозы кислота осталась в сыре, тогда как при сбраживании лактозы во время выработки сыра часть образующейся кислоты уходит с сывороткой.

По количеству бактерий в сырах после прессования и 3-суточного возраста контрольные сыры превосходили опытные, особенно сыры II варианта, но при последующем созревании высокое количество жизнеспособных клеток сохранялось в опытных сырах I варианта.

Содержание БГКП в опытных сырах после прессования было в 450 раз выше, чем в контрольных сырах. Контрольные сыры были оценены высшим сортом, с оценкой 91,4 балла, опытные – первым, с оценкой 88,3 балла, в т. ч. 36,6 за вкус и запах. В сырах II варианта рисунка не было или был рваный рисунок, образованный в результате продуцирования H_2 посторонней микрофлорой.

Опыт показывает, что массивное загрязнение фагами смеси для выработки сыров в сырной ванне может оказать мощное воздействие на микробиологические процессы и качество сыра, но это влияние начинает проявляться не в сырной ванне, а во время прессования, и оно может быть обнаружено по pH сыров после прессования. Вследствие этого

необходимо обязательно включать определение pH сыров после прессования в схему контроля производственных процессов. Умеренное развитие фагов во время выработки не оказывает существенного влияния на технологический процесс и качество сыра.

4.3. Влияние бактериофага на нарастание кислотности сыворотки, влажность сыров после прессования, скорость нарастания кислотности и биомассу молочнокислых бактерий в Костромском сыре [1296]

Показатели, ед. измерения	Варианты сыров		
	1	2	3
Кислотность сыворотки в конце обработки, °Т	13,0	13,3	13,5
Влажность сыров после прессования, %	48,7	47,7	45,0
Активная кислотность, ед. pH			
сырной массы перед формованием	6,22	6,22	6,21
сыра после прессования	6,15	6,14	5,59
3-суточного сыра	5,54	5,49	5,32
5-суточного сыра	5,53	5,34	5,18
10-суточного сыра	5,46	5,19	5,18
30-суточного сыра	5,25	5,16	5,17
Общее количество бактерий, млн./г			
сыры после прессования	196	226	881
3-суточный сыр	1330	510	1900
5-суточный сыр	1100	700	950
10-суточный сыр	1400	750	1600
30-суточный сыр	1200	450	750
45-суточный сыр	1100	600	1100

Анализ большого количества сыров с низкими температурами II нагревания, выработанных с Угличскими закваскими, показал, что в них после прессования обычно содержится около $1{,}4 \cdot 10^9$ КОЕ/г молочнокислых бактерий, а выработанных в условиях фаговой инфекции $(0{,}4–0{,}6) \cdot 10^9$ КОЕ/г [1327]. Численность лактококков в пораженных фагами сырах достигает нормы в 5–10-суточном возрасте, а может ее не достигнуть до конца созревания. В последнем случае в сырах обнаруживали несброженную лактозу даже в середине периода созревания.

Интересны результаты опыта по выработке Чеддера в условиях фаговой инфекции [198]. Сыр вырабатывали с молочным лактококком ML_8 как одноштаммовой закваской, двумя дозами сычужного энзима и тремя дозами фагов-гомологов. Степень лизиса клеток в сыре зависела от дозы фагов-гомологов. Повышение дозы фагов увеличивало содержание свободных аминокислот и NH_3 в сырах (за счет высвобождения внутриклеточных бактериальных протеиназ), но снижало скорость ферментации лактозы. Повышение дозы сычужного энзима увеличило содержание пептидов и горечь, последняя исчезала при повышении дозы

фага. Таким образом, лизис части клеток микрофлоры закваски фагами может уменьшить горечь в сырах. Снижение горечи в сырах в результате лизиса части клеток лактококков в конце выработки сыра также отмечал Lowrie [1492]. Этот метод, конечно, нельзя рекомендовать для борьбы с горечью, так как снижение скорости сбраживания лактозы может привести к пищевому отравлению.

4.5. Защита заквасок от бактериофага, фаговый мониторинг

Можно выделить два направления в профилактике лизиса микрофлоры заквасок бактериофагом:

- максимально возможное снижение вероятности контакта микрофлоры с фагами;
- повышение устойчивости микрофлоры заквасок к действию бактериофагов во время контактов с ними.

Полностью исключить контакты микрофлоры закваски с фагами на производстве невозможно, так как сыры вырабатывают из нестерильного сырья в контакте с нестерильной внешней средой. Однако эти контакты можно исключить вплоть до начала выработки сыра в сырной ванне, а потерю активности качественной до внесения в смесь закваски во время выработки сыра из-за бактериофага можно рассматривать как чрезвычайное событие, небольшие же масштабы лизиса микрофлоры закваски во время выработки сыра большого вреда не приносят. Комплекс мер по предотвращению контактов микрофлоры заквасок с бактериофагами включает следующее.

Закваски не должны содержать лизогенных культур, которые сами несут в себе фаги. Имеются методы освобождения («излечивания») лизогенной культуры от содержащихся в ней профагов, при этом часть «вылеченных» культур остается нечувствительной к бывшему в ней фагу [539]. Вероятно, эти методы могут быть использованы для получения пригодных для сыроделия штаммов.

С точки зрения загрязнения производства фагами со стороны закваски предпочтительнее использовать моновидовые одноштаммовые закваски, нечувствительные к собственным профагам. Однако при их применении нужны специальные меры защиты от загрязнения фагами из внешней среды, так как попадание в одноштаммовую закваску даже одного фага может вывести ее из строя. В течение многих лет безукоризненно действует система защиты закваски от заражения фагами и посторонней микрофлорой, разработанная Льюисом [1495]. В соответствии с этой системой закваски готовят в герметичных сосудах, погруженных в воду, введение посевного материала проводят через специальные клапаны с дезинфицирующим раствором стерильными шприцами, что предотвращает загрязнение закваски фагами во время ее внесения в заквасочник. С помощью этой системы один и тот же штамм лактокок-

ков можно использовать в качестве закваски годами. Применение герметичных заквасочников и асептическое внесение инокулята предлагается и другими учеными в качестве главного условия защиты заквасок от бактериофага [567].

В многоштаммовых закваскаx особенно опасны мультилизогенные штаммы, выделяющие во внешнюю среду несколько типов фагов. Фаги, высвобождаемые лизогенными культурами, это внутренние враги микрофлоры заквасок. Их нелегко выявить, поэтому при подборе микрофлоры закваски, нужно проверять штаммы на лизогенность, используя в качестве индикаторных другие штаммы, которые используют в закваске вместе с исследуемым штаммом. При выявлении лизогенной культуры ее исключают из состава закваски. Если же лизогенность культуры не будет выявлена, то выделяемые ею профаги не будут лизировать другие штаммы, включаемые в закваску. Limsowtin et al. сообщают о непрерывном использовании в течение 2–8 месяцев (в зависимости от завода) многоштаммовой закваски лактококков в производстве сыра Чеддер [648]. Скорее всего, она была составлена из лизогенных штаммов, нечувствительных к умеренным фагам, выделяемым друг другом. В другой работе сообщается, что одну многоштаммовую закваску использовали в промышленности в течение 10 лет без каких-либо помех по отношению к скорости кислотообразования, составлена она была из лизогенных штаммов [880]. Teuber & Lembke считают, что возможно, лизогения и система рестрикции-модификации – это два фактора, которые обусловливают способность лактококков выполнять свои функции в условиях сыроделия [1074]. Наиболее вирулентные фаги никогда не выступают в роли профага, что вызывает сомнения в важности лизогенных культур как источников обсеменения фагами сыродельных предприятий. Таким образом, мнения о возможности использования лизогенных культур в сыроделии противоречивы.

Для предупреждения загрязнения закваски фагами из внешней среды особое внимание должно быть обращено на помещения для приготовления заквасок. Инфекция закваски фагами наиболее опасна именно на этом этапе, поскольку приготовление закваски в зависимости от способа и исходного инокулята может продолжаться от 5 до 18 ч. Все возможные пути проникновения бактериофагов в заквасочную должны быть перекрыты: окна, двери в заквасочную должны плотно закрываться, при открытии дверей в помещение заквасочной воздух должен не входить, а выходить из него, что обеспечивается подачей в заквасочную по автономной системе вентиляции стерильного воздуха.

Доступ в заквасочную должен разрешаться только оператору и через тамбур, в котором хранится спецодежда, включая обувь, предназначенные для работы только в заквасочной. Оператору заквасочной нельзя посещать помещения, в которых вырабатывается сыр и перерабатывается сыворотка. Необходимо дистанционное управление подачей закваски в сыродельный цех и заполнения заквасочников молоком.

Направления воздушных потоков на предприятиях должны предупредить заражение бактериофагами заквасок и молока после пастеризации [597]. Через заквасочную не должны проходить сквозные молокопроводы, воздухопроводы, канализация, особенно из помещений, в которых вырабатывают сыр, перерабатывают сыворотку или обрабатывают сырое молоко.

Заквасочная, включая тамбур, должна быть оснащена бактерицидными лампами, расположенными так, чтобы оставалось минимальное количество затененных мест. Облучение УФ заквасочных обязательно перед пастеризацией и охлаждением молока для приготовления производственной закваски. Затененные места после УФ облучения должны хлорироваться. Целесообразно применять для приготовления производственных заквасок герметичные заквасочники с поддержанием небольшого избыточного давления внутри него путем непрерывной подачи стерильного воздуха или азота и устройствами для асептического внесения посевного материала. Существуют специальные фильтры типа «Ultrapolymembrane PP-PP 30/3» для воздуха, подаваемого в заквасочник, которые пропускают не более одного вириона из 10^8, и другие фильтры [635, 1529, 1771]. Немецкая фирма Wolbern разработала оборудование для приготовления и распределения производственных заквасок в асептических условиях [1770].

Необходимо использовать автономные системы для мойки и дезинфекции оборудования заквасочных помещений; пол заквасочных должен быть сухим, без трещин и выбоин.

Активизацию бактериальных концентратов, приготовление пересадочных заквасок следует проводить в специальном боксе, лучше в стерильном молоке и герметичных емкостях. Свести возможные контакты микрофлоры закваски с фагами можно до минимума при внесении бактериальных концентратов в смесь для выработки сыра непосредственно или после кратковременной активизации в небольших объемах стерильного молока или специальных сред, т. е. без размножения микрофлоры сухих заквасок на заводе до внесения их в сыродельную ванну (гл. 5). Бактериальные концентраты, вырабатываемые Угличской биофабрикой, пригодны для непосредственного внесения в сырную ванну, но, к сожалению, они пока стоят слишком дорого, а дозы их внесения непосредственно в смесь для выработки сыра резко возрастают по сравнению с дозами, необходимыми для приготовления производственной закваски. Метод непосредственного внесения в смесь можно использовать в экстренных случаях при потере активности основной закваски, в нормальных условиях следует готовить производственные закваски беспересадочным способом с предварительной активизацией бакконцентратов.

Для снижения загрязнения завода бактериофагами помещения, в которых хранится и обрабатывается сырое молоко, перерабатывается сыворотка, должны быть изолированы от помещений, в которых вырабатывают сыр. Желательно, чтобы цвет спецодежды у работников сырье-

вой и сыродельных зон был различен, перемещение работников из зоны в зону должно быть запрещено или максимально ограничено. Сепарирование сыворотки следует проводить в герметичных сепараторах. Все сливы должны поступать в канализацию по закрытым системам.

Размножающиеся во время выработки сыров бактериофаги не должны заражать последующие выработки, поэтому оборудование и инвентарь после каждой выработки должны быть продезинфицированы, в частности, сыродельные ванны пропарены в течение 5 мин. В противном случае бактериофаги от предыдущей выработки, оставшиеся на поверхности оборудования и инвентаря, попадут в смесь для следующей выработки, и опасность снижения активности микрофлоры закваски в последующих выработках резко возрастает. Так, в сырах второй выработки, выработанных без санитарной обработки ванны после первой, количество бактериофагов возросло в 371 раз, а стафилококков – на порядок по сравнению с их содержанием в сырах первой выработки [1719]. На поверхности сырных ванн, не продезинфицированных сразу после выработки, ЛФ обнаруживали в 100% случаев, на поверхностях, пропаренных сразу после выработки ванн – в 20% случаев [1594]. Загрязнение дезинфицирующих средств белками резко снижает эффективность их действия на бактериофаги [657, 771, 1719].

Периодически следует дезинфицировать воздух, так как фаг с капельками сыворотки распространяется по воздуху [1269]. В воздухе в зоне приготовления закваски обнаружено 10^2 $м^{-3}$, рядом с сепаратором для обработки сыворотки – 10^8 $м^{-3}$ фагов [765]. Для уничтожения фагов в воздухе используют 1% раствор хлорной извести (17 мг активного хлора на $м^3$) или 0,05% раствор хлорамина (7,5 мг/$м^3$ активного хлора).

Для уничтожения фагов при обработке оборудования и молокопроводов содержание активного хлора в дезинфицирующем растворе должно быть не ниже 100 мг/кг, для обработки деревянных поверхностей – не менее 450 мг/кг [1158]; температура растворов – не ниже 60° С [1306].

Наиболее часто снижение активности заквасок наблюдается в конце смены во время последних выработок сыра [1460, 1594]. Правда, повышенное содержание фагов нередко наблюдается в сырах первой выработки, что обусловлено репликацией фагов ночью на поверхностях молокопроводов и оборудования и смыванием их первыми порциями молока. Дезинфекцию следует проводить не только после, но и до работы. Важно держать в исправном и сухом состоянии полы, стены, памятуя о том, что репродукция бактериофагов происходит в размножающихся бактериальных клетках, а размножение лактобактерий происходит только во влажных условиях, в местах, где скапливаются остатки молока и других молочных продуктов.

Высокий уровень гигиены – необходимое, но недостаточное условие в профилактике снижения активности заквасок из-за действия фага, что обусловлено возможностью попадания на завод терморезистентных фагов с сырым молоком и лизогенными культурами. Поэтому парал-

лельно с мероприятиями по повышению гигиены должны осуществляться и мероприятия по второму направлению – обеспечению нормальной работы закваски в присутствии бактериофагов.

Определенный эффект дает использование в составе заквасок нескольких видов бактерий, в частности, в качестве газообразующей микрофлоры – диацетильного стрептококка и лейконостоков, или в качестве кислотообразователей – лактококков и термофильного стрептококка [349].

Вероятно, нечувствительных к бактериофагам штаммов лактококков в природе нет. Однако при проверке чувствительности к фагам штаммов лактококков значительное количество их не лизировалось ни одним коллекционным фагом. У Henning et al. 31 из 100 штаммов были нечувствительны ни к одному из 60 фагов [428], у Chopin et al. 83 из 291 штамма – к 132 фагам [81], у Erickson 32 из 74 – к 25 фагам [293], у Докукина около 77% штаммов – к 88 фагам [1353]. Скорее всего, это следствие неполноты использованных коллекций бактериофагов, но в любом случае можно утверждать, что фаги, способные лизировать эти штаммы, встречаются редко.

Штаммы, для которых в коллекциях есть фаги, способные их лизировать, различались по фаготипу (типу и количеству способных их лизировать фагов) (табл. 4.2). Для проверки влияния фаготипа на качество сыра Докукиным были составлены три закваски, в каждую из них включили 3–4 штамма молочного, 2–3 штамма диацетильного и 1–2 штамма сливочного лактококков [1353]. В закваску А включили только штаммы, для которых в коллекции не было вирулентных фагов, в закваску Б включены штаммы, лизируемые не более чем 5% коллекционных фагов (все штаммы имели разные фаготипы), и в закваску В – штаммы, которые лизировались более чем 25% фагов [1356]. С опытными заквасками вырабатывали Костромской сыр в экспериментальных и заводских условиях. В экспериментальных условиях с благополучной фаговой ситуацией различий в микробиологических и технологических процессах, качестве сыров, выработанных с заквасками А, Б и В, не было, что свидетельствует о правильности подбора микрофлоры опытных заквасок по другим, чем отношение к фагу, критериям. Испытание же заквасок в заводских условиях с неблагополучной фаговой ситуацией выявило явные преимущества заквасок А и Б: качество сыров вариантов А и Б было выше, чем качество сыров варианта В, на 7,3 и 9,8 балла.

Обычно штаммы лактококков с высокой скоростью кислотообразования более чувствительны к бактериофагам, чем штаммы с низкой кислотообразующей активностью. Сочетание в закваске обоих типов штаммов, с одной стороны, понижает ее чувствительность к бактериофагам, с другой, обеспечивает общую нормальную активность, так как энергичные кислотообразователи стимулируют рост «слабых» штаммов [625].

Установлено, что штаммы лактококков, имеющие клетки с более толстыми клеточными стенками (40–65 нм), менее чувствительны к действию бактериофагов [1698]. В клеточной стенке фагоустойчивых штам-

мов лактококков выше содержание соединений, в состав которых входят белок и гексозы [1141].

В лизатах чувствительных к фагу штаммов лактококков могут быть специфические лизины (энзимы типа лизоцима), которые растворяют другие, нечувствительные к данному фагу штаммы лактококков [754, 755, 1516]. Лизины, как и вирулентные фаги, лизируют бактериальные клетки, но, в отличие от фагов, их репликации в клетках не происходит. Фаговые лизины не обладают специфичностью, какая присуща фагам, под действием которых они образованы. Так, лизины, образуемые в клетках лактококков, могут атаковать не только лактококки, но и стрептококки группы D. Оптимальная температура для действия лизинов 37° С, оптимальный pH 6,5–6,9. Все фаги, образующие лизины, имеют ожерелье вокруг негативных колоний и пролатные (вытянутые) головки. Образующие лизины фаги особенно опасны для производства, поэтому поставщики сухих заквасок и концентратов должны не включать в их состав штаммы-хозяева таких фагов. Кроме этого, даже небольшое количество пенициллина в молоке повышает чувствительность лактобактерий к фаговым лизинам, поэтому такое молоко нельзя использовать в производстве ферментированных молочных продуктов.

Все, что сказано выше, указывает на необходимость учета природной резистентности штаммов лактококков к бактериофагу при подборе их штаммового состава в состав заквасок.

На заводе, вырабатывающем 10 т сыра в сутки, ежедневно «работает» огромное количество клеток лактококков (не менее 10^{16}), каждый день на нем может появиться ~ $5 \cdot 10^{7}$ спонтанных мутантов с измененной чувствительностью к фагу [130]. На заводах с большим количеством дефектных сыров циркулируют фаги с широким спектром литического действия и высокой вирулентностью. Ясно, что при высокой степени инфицирования производства фагами всегда могут появиться мутанты, способные быстро лизировать штаммы закваски, и закваска рано или поздно потеряет активность. Чтобы этого не произошло, проводят ротацию штаммов, заключающуюся в их смене каждые 4–7 дней [619, 1269]. Каждая закваска, приходящая на смену, должна включать штаммы с другими фаготипами, чем предшествующая. Важно, чтобы скорости размножения во время выработки сыра штаммов, включенных в состав многоштаммовой закваски, были близкими, иначе более активные (доминантные) штаммы вытеснят при пересадках менее активные и фагорезистентность закваски понизится [184]. Многоштаммовость и ротация заквасок – основные принципы действующей в России системы защиты заквасок от бактериофага. Правда, нет полной ясности о количестве штаммов каждого вида, которое нужно вносить в закваску. Гибшман и Белоусова считают, что нужно вносить до 10 штаммов в состав закваски [1268]. По-видимому, это число для каждого подвида лактококков нужно сократить, так как количество штаммов с достаточно высокой природной устойчивостью к фагу невелико, и чем чаще их

используют, тем больше вероятность появления на заводах фагов, способных быстро их лизировать. Лизис фагами хотя бы одного из штаммов, входящих в закваску, увеличивает опасность появления мутантов фага, способных лизировать другие штаммы. Для производства Чеддера в закваски, составленные из известных штаммов, обычно включают два штамма с ротацией через 4–5 суток, в закваски из неизученных штаммов раньше включали до 6 штаммов, теперь – также два штамма [1095]. Чем реже проводится ротация штаммов при условии сохранения ими активности, тем стабильнее качество сыра.

При недостаточно высоком уровне гигиены производства многолетнее использование одного и того же набора производственных штаммов приводит к появлению на заводах фагов, способных лизировать все эти штаммы. Численность каждого фага будет колебаться в зависимости от того, входит ли его хозяин (хозяева) в состав закваски, используемой в данный момент, но в небольших количествах они могут постоянно присутствовать на предприятии. В этом случае продолжительность использования закваски на заводе будет определяться временем, необходимым для размножения до опасных количеств фагов, способных лизировать входящие в ее состав штаммы. Зачастую закваски начинают терять свою активность после 1–2 дней использования.

На предприятиях с высоким уровнем гигиены производства закваска может работать без потери активности длительное время, если она составлена из фагоустойчивых мутантов, в результате чего можно исключить ротацию штаммов или заквасок или снизить ее частоту [1095]. Фагоустойчивые мутанты бывают спонтанные и индуцированные. Спонтанное появление фагорезистентных мутантов – очень важное свойство культур, обеспечивающее возможность их существования в природе при постоянном контакте с фагами. Они появляются в культуре с частотой от 10^{-7} до 10^{-10} [1187, 1642]. То же можно сказать и о мутациях фагов, изменяющих спектр их литического действия, что помогает фагу выжить при изменении бактериального окружения. Это свойство бактерий и фагов обеспечивает динамическое равновесие бактерий и их фагов в природе, поэтому проблемы бактериофагии при выработке сыров из сырого молока не было. Отсюда следует, что к спонтанным фагоустойчивым мутантам лактококков рано или поздно появятся способные их лизировать бактериофаги. Время, необходимое для их появления, зависит от количества бактериофагов, циркулирующих на заводе: чем их больше, тем быстрее появятся мутанты фагов, способные лизировать фагоустойчивые культуры. Эффективность и возможная продолжительность применения фагоустойчивых мутантов, таким образом, в огромной степени зависит от уровня гигиены производства сыра.

Спонтанные мутанты отбирают двумя способами. Первый способ заключается в выращивании «родительского» штамма в среде со смесью коллекционных фагов, выделении из культур «вторичного» роста мутантов, размножение которых свидетельствует об их резистентности к нахо-

дящимся в среде фагам, очистке их серией перевивок в жидкой среде с посевами на твердые среды и выделении изолированных колоний, проверке по технологическим критериям, прежде всего по скорости кислотообразования [735, 1263, 1288, 1343, 1460]. Пригодные по технологическим показателям фагоустойчивые мутанты родительского штамма лактококка используют в составе заквасок. Их можно поддерживать на заводе в чистой культуре или в виде смеси штаммов, добавляя при пересевах в молоко каждый раз фильтраты сыворотки, получаемой на заводах, где они применяются [928], осуществляя таким образом непрерывный отбор фагоустойчивых мутантов. Пересевы фагоустойчивых мутантов или заквасок проводят в молоке с фильтратом сыворотки и в качестве контроля – в молоке. Если кислотность в опыте при пересеве стала несколько ниже, чем в контроле, но при последующем пересеве различия в нарастании кислотности в опыте и контроле исчезли, то такой штамм (или закваска) может использоваться в производстве; если различия велики и не исчезают при новых пересевах, то штамм или закваску выбраковывают.

При подборе многоштаммовых заквасок нужно проверять взаимоотношения между штаммами, так как если устойчивость к фагам у мутантов появилась в результате их перехода в лизогенное состояние, то умеренные фаги, которые всегда есть в лизогенных культурах, могут лизировать другие штаммы, включаемые в закваски.

Из 21 родительского штамма лактококков этим методом было отобрано 211 фагоустойчивых вариантов, из которых 28 были забракованы за низкую кислотообразующую активность, 53 – за нетипичную морфологию, 99 – за органолептические показатели свернутого ими молока (чаще всего из-за горького или нечистого вкуса). Отобранные мутанты с целью проверки стабильности приобретенной устойчивости к фагу хранили в обезжиренном молоке с перевивками через каждые 15 дней [1301]. Изменение устойчивости фагорезистентных вариантов, полученных из штаммов молочного и диацетильного (с высокой энергией кислотообразования) лактококков, показано на рис. 4.6 [1301]. Все варианты диацетильного лактококка с низкой скоростью кислотообразования потеряли устойчивость к фагам через 7 месяцев хранения. Скорее всего, они были недостаточно хорошо очищены от клеток родительских штаммов, обладающих высокой скоростью кислотообразования в молоке, которые и вытеснили фагоустойчивые дочерние клетки с низкой скоростью кислотообразования. Для предотвращения этого следует провести культивирование родительских штаммов в присутствии смеси фагов не один раз, как было сделано в работе, а повторить его несколько раз (ирландские ученые применили 7-кратное культивирование штаммов в присутствии фагов при получении фагоустойчивых мутантов) [997].

Все культуры молочного и половина культур диацетильного лактококка с высокими скоростями кислотообразования сохранили приобретенную устойчивость к бактериофагу в течение 7 месяцев хранения, а по две культуры этих подвидов сохранили ее в течение 17 месяцев хранения.

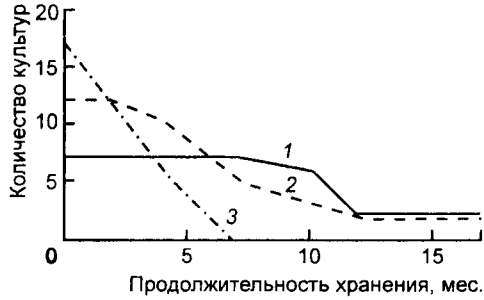


Рис. 4.6. *Устойчивость культур мезофильных молочнокислых стрептококков к бактериофагу при хранении: 1 – Lc. lactis; 2 – Lc. diacetylactis (с высокой скоростью кислотообразования); 3 – Lc. diacetylactis (с низкой скоростью кислотообразования)*

В зарубежных работах при отборе фагорезистентных мутантов проверяют их протеолитическую активность, поскольку потеря способности адсорбировать фаг часто сопровождается потерей казеинолитической активности. Однако протеиназонегативные мутанты обладают и низкой кислотообразующей активностью, поэтому достаточно провести пробу только на кислотообразующую активность.

Вторым методом отбора спонтанных фагорезистентых мутантов является их выделение из подсырной сыворотки после инкубации ее в течение определенного времени при оптимальной для размножения лактококков температуре [1301] или воздействие на родительские штаммы смесью коллекционных фагов и сыворотки, освобожденной от микробных клеток с помощью мембранных фильтров [1095]. В этом методе в качестве селекционного фактора используются коллекционные фаги и фаги, циркулирующие на сыродельных заводах, на которых отбирается сыворотка. Именно эту идею используют, применяя сыворотку из предыдущих выработок как закваску для последующих выработок. Из 24 образцов подсырной сыворотки, отобранной на шести сыродельных заводах России, было получено 206 фагоустойчивых культур лактококков, 22% которых сохранили устойчивость к фагу в течение 9–10 месяцев хранения [1301]. Полученные фагоустойчивые мутанты используются в производстве угличских заквасок.

Оба метода можно объединить, выращивая в фильтратах сыворотки с добавлением коллекционных бактериофагов хорошо изученные, ценные для производства штаммы лактококков.

Ирландские ученые 7-кратной обработкой родительских штаммов коллекционными фагами и сывороткой получили 35 фагорезистентных мутантов; по-видимому, все они были лизогенными, но ни один из них не был индикаторным штаммом для других. Полученные фагоустойчивые культуры использовали без ротации в производстве Чеддера (по 2–4 культуры) до тех пор, пока на заводе в сыворотке не появлялись

фаги, способные их лизировать с достаточно высокой скоростью. «Провинившуюся» фагоустойчивую культуру заменяли другой, предварительно проверенной в пилотной установке, или из нее снова получали фагоустойчивые мутанты. Набор фагоустойчивых культур сохранял активность в течение сезона.

Есть рекомендации по приготовлению закваски, резистентной к циркулирующим на заводе фагам, путем ежедневного культивирования в течение 15–18 ч при 30° С нескольких штаммов лактококков в пермеате сыворотки, отобранной на этом же заводе, с последующей пересадкой в обезжиренное молоко для проверки кислотообразующей активности [174, 928]. Схема получения и использования спонтанных сывороточных фагорезистентных мутантов, разработанная американскими учеными, показана в табл. 4.4.

***4.4. Схема получения и использования в производстве сыра фагорезистентных мутантов* [928]**

1. Получение банка штаммов лактококков с высокой кислотообразующей активностью
2. Инкубация каждого штамма в фильтратах смеси образцов сыворотки
3. Приготовление композиций штаммов, к которым не было обнаружено фагов в сыворотке на данном предприятии (3–6 штаммов)
4. Использование подобранных композиций в производстве сыра
5. Ежедневная проверка штаммов на отсутствие гомологичных для них фагов в сыворотке на заводе, где они используются
6. Отбраковка штаммов, к которым появились фаги в сыворотке
7. Получение из отбракованных штаммов мутантов, устойчивых к появившемуся на заводе гомологичному фагу-мутанту
8. Проверка полученных мутантов по технологическим свойствам
9. Внедрение пригодных по п. 8 мутантов в производство

Согласно их схеме отбираются штаммы лактококков с высокой скоростью кислотообразования, к которым не обнаружено гомологичных фагов в сыворотке на том предприятии, на котором эти штаммы намечено использовать. Образцы этих штаммов хранят в лаборатории в замороженном виде, перед приготовлением производственной закваски намеченные штаммы размножаются до нужных количеств и направляются в производство. Каждый штамм ежедневно проверяют на отсутствие в сыворотке фагов, способных его лизировать. Процедура проверки состоит в следующем. Отбираются образцы сыворотки из различных ванн, смешиваются, и с помощью мембранных фильтров готовится фильтрат сборной пробы сыворотки, свободный от бактерий. Из полученного фильтрата в асептических условиях готовят 0, 1 и 2 разведения в стерильном обезжиренном молоке с индикатором бромкрезолпурпур (БКП), разлитым в пробирки по 10 мл. После этого подготовленное молоко и молоко без добавления сывороточного фильтрата (контроль) инокулируют 1% проверяемого штамма и

посевы выдерживают 1 ч при 37° С и 5 ч при 30° С, затем сравнивают окраску индикатора в пробирках с фильтратом сыворотки и контролем. Необходимы две температуры инкубации, так как есть фаги, репликация которых не происходит при температуре ниже 37° С, у других она происходит при 25–30° С. После инкубации в контроле цвет индикатора становится желтым. Если в опытных пробирках цвет будет таким, как в контроле, то фагов к проверяемому штамму на заводе нет; если цвет индикатора в опытных пробирках более темный, то это означает наличие фагов к проверяемому штамму в фильтрате сыворотки. Скорость свертывания молока в расчет не принимается, так как в сыворотке остается достаточно высокое количество молокосвертывающих энзимов.

По наблюдениям Sandine, нет необходимости выбраковывать штамм, если отличия в окраске отмечаются только в пробирках, в которые внесен неразбавленный фильтрат или его первое разведение [928]. Если окраска индикатора в пробирке с добавлением меньших количеств фильтрата отличается от контроля, то штамм изымают из закваски. В лаборатории повторяют процедуру получения из него мутанта, устойчивого к циркулирующим на производстве фагам.

Для получения фагоустойчивого мутанта используют 1–2 л культуры родительского штамма и добавляют к ней 5–10 мл фагового лизата, после этого культуру выдерживают до свертывания молока, на что иногда требуется несколько суток. Для отбора мутантов, обладающих достаточно высокой скоростью кислотообразования, американские ученые используют специальную среду – агар для дифференциации штаммов с высокой и низкой кислотообразующей способностью (FSDA), состав которой приведен в табл. 4.5 [928]. На этой среде активные кислотообразователи образуют колонии 2–3 мм в диаметре, слабые кислотообразователи – 0,5–1,0 мм в диаметре.

4.5. Состав среды для выделения фагорезистентных мутантов с высокой скоростью кислотообразования [928]

Компонент А[а)]	Компонент В[в)]
Агар, 10 г	Сухое обезжиренное молоко, 100 г
Na глицерофосфат, 19 г	Дистиллированная вода, 450 мл
Дистиллированная вода, 550 мл	
Лакмус, 1 г	

[а)]Кипятят смесь воды и агара в двухлитровой колбе 30 мин, затем добавляют лакмус и глицерофосфат; автоклавируют при 121° С 7 мин.

[в)]Смешивают ингредиенты в литровой колбе и автоклавируют 7 мин при 121° С. После стерилизации компоненты А и В охлаждают до 55° С в водяной бане, смешивают в большой колбе при легком вращении, разливают в стерильные чашки Петри по 20 мл и подогревают для удаления пузырьков воздуха. Чашки подсушивают при 30° С в течение 24 ч или при 25° С в течение 48 ч, инокулируют поверхностным посевом 0,1 мл и выдерживают в анаэробных условиях 48 ч при 30° С.

Для использования в закваске пригодны штаммы, которые приобрели устойчивость к фагам в результате потери способности их адсорбировать, поэтому необходимо поставить пробу на адсорбцию, а также на отсутствие посторонних привкусов в свернутом ими молоке. Лизогенные культуры отбраковываются.

В США считают, что для включения в закваски для сыра Чеддер пригодны штаммы, способные свернуть обезжиренное молоко при 22° С и 1% инокулята не позднее чем за 16 ч [928]. Для приготовления производственной закваски они рекомендуют антифаговые среды с внутренним контролем pH.

Индуцированные фагоустойчивые мутанты получают путем обработки фагочувствительной культуры мутагенными факторами (УФ, гамма- и рентгеновские лучи, нитрозометилмочевина, формальдегид и др.). Так, например, γ-излучение (поглощенные дозы 350–800 Гр) индуцировало появление фагоустойчивых мутантов, выход которых в $10–10^5$ раз превышал уровень фона спонтанных мутаций [1317]. Часть мутантов, полученных в результате воздействия на родительскую культуру γ-лучей, была резистентна ко всем 52 фагам, использованным для отбора фагоустойчивых мутантов. Большинство мутантов сохранило устойчивость к фагам при ежемесячных пассажах в стерильное обезжиренное молоко и при хранении в лиофилизированном состоянии. Более 60% мутантов сохранили на уровне родительских штаммов основные технологические свойства: кислото-, газо- и ароматообразование, термо-, соле-, щелочеустойчивость, спектр ферментируемых углеводов и др. Разработаны методики получения фагоустойчивых мутантов с помощью УФ-облучения, нитрозометилмочевины.

Существует корреляция между плазмидными профилями и устойчивостью к бактериофагам. Одна из многоштаммовых заквасок, в составе которой были штаммы с определенными плазмидными профилями, использовалась для производства Чеддера в течение пяти лет без ротации [38]. Разработана методика получения фагоустойчивых мутантов лактококков путем конъюгативного переноса ДНК; этим методом получены и широко используются в промышленности фагоустойчивые варианты лактококков [558, 612, 1209, 1210].

Из хромосомы *Lc. lactis* выделен и идентифицирован элемент, стабилизирующий плазмидные гены, в том числе ответственные за фагоустойчивость [708].

Для проникновения генома фага в клетки хозяина нужны ионы Ca^{2+}, однако это справедливо не для всех штаммов [994]. Потребность ЛФ в Ca^{2+} использована при разработке антифаговых сред для приготовления производственных заквасок, из которых ионы Ca^{2+} удалены оксалатом аммония, 2% смеси $NaH_2PO_4 \cdot H_2O : Na_2HPO_4$ в отношении 3 : 2 (pH 6,5) или цитратом натрия [407, 760, 970, 1313]. Основой этих сред является обезжиренное молоко или сыворотка [582, 717]. Антифаговые среды или антифаговые добавки в молоко для приготовления заквасок вырабатывают

несколько фирм, в т. ч. Miles, Dairyland Lab. и Galloway-West Co. (США) [21, 210, 717], Wiesby (Германия) [807]. Несмотря на то что в этих средах ингибируется репродукция не всех ЛФ и не все лактококки хорошо растут [582, 870, 997, 1313], опасность потери активности закваски при приготовлении на антифаговых средах резко сокращается. Так, в среде, содержащей 10% сухого обезжиренного молока, 2% фосфатного буфера, 1% дрожжевого экстракта активность лактококков закваски была значительно выше, чем в обезжиренном молоке, титр инокулированных фагов-гомологов микрофлоры закваски снижался с 10^7 мл$^{-1}$ до 1 мл$^{-1}$ после трех пересадок, в то время как в обезжиренном молоке он повысился до 10^8 мл$^{-1}$; расход закваски снизился на 30–40% [582]. Кроме этого, применение сухих антифаговых сред, вырабатываемых централизованно при строгом микробиологическом контроле, исключает такой фактор, влияющий на закваску, как низкое качество молока.

В Польше получали антифаговую сыворотку путем внутримышечной инъекции суспензии фагов коровам за несколько дней до и после отела. Полученную сыворотку вносили в молоко для выработки сыра, что обеспечивало нормальную скорость кислотообразования в присутствии соответствующих фагов гомологичными штаммами лактококков [1047].

Некоторые технологические факторы могут влиять на размножение ЛФ на сыродельных заводах. При недостаточно высокой кислотообразующей активности заквасок иногда применяют их активизацию, заключающуюся во внесении закваски в молоко, приготовленное для выработки сыра, за 1–2 ч до внесения молокосвертывающих энзимов. Увеличение пребывания закваски в молоке до свертывания повышает ее активность во время выработки, но также резко повышает опасность бактериофага. При низкой активности закваски в качестве оперативной меры можно увеличить ее дозу, а далее нужно выявить и устранить причины ее низкой активности.

Во время приготовления производственных заквасок и выработки мелких сычужных сыров лактококки подвергаются действию различных температур. Установлено, что повышение температуры с 31 до 38° С почти вдвое снижает продолжительность латентного периода при малом изменении выхода фага [268]. В России температуру II нагревания в производстве сыров этого класса часто повышают до 41–42° С, но, к сожалению, неизвестно, как эта температура влияет на репликацию фагов. Однако есть исследования, показывающие, что выдержка штаммов лактококков, обладающих системой рестрикции и модификации, при температурах 40–50° С снижает рестрикцию фагов и приводит к появлению модифицированных фагов с высокой эффективностью репликации на новых хозяевах [924]. Это может значительно снизить эффективность ротации штаммов и многоштаммовости заквасок.

Для приготовления производственной закваски молоко пастеризуют при 90–95° С с выдержкой 10–20 мин. Жесткая тепловая обработка снижает содержание в молоке ионов Mg^{2+}, которые необходимы, как и ионы

Ca^{2+}, для адсорбции фага. Производственную закваску на заводах готовят при температурах от 23 до 31° С. Чем выше температура приготовления закваски, тем быстрее адсорбируется фаг на клетки лактококков.

Постоянное наблюдение за фаговой ситуацией (фаговый мониторинг) на каждом предприятии и в целом в промышленности – необходимый элемент управления качеством ферментированных молочных продуктов, в т. ч. сыров. Он осуществляется на нескольких уровнях:

- ежедневный контроль активности производственной закваски (кислотность закваски после ее культивирования в течение определенного времени и при определенной температуре, установленных на заводе; проба на активность по приросту кислотности молока с молокосвертывающим энзимом при оптимальной для закваски температуре, однопроцентной посевной дозе за 3 ч; нарастание кислотности сыворотки во время выработки сыра и pH сыров после прессования);
- периодическое определение титра и спектра литической активности бактериофагов в различных объектах, и прежде всего в производственных заквасках и сыворотке, а также в воздухе помещений, в которых вырабатывают сыр и готовят закваску, по количеству негативных колоний на газонах индикаторных штаммов или штаммов, входящих в ее состав закваски;
- выявление причин, вызывающих отклонения фаговой ситуации от нормы, разработка мер по их устранению с особым вниманием к мойке и дезинфекции оборудования, молокопроводов, инвентаря, соблюдению правил приготовления закваски;
- проведение мероприятий по нормализации фаговой ситуации [1571].

При определении количества фагов в различных объектах на заводе нужно использовать в качестве тест-культур набор индикаторных штаммов, который вырабатывается на Угличской биофабрике, и можно использовать саму закваску, принимая во внимание, что негативные колонии на газоне, образуемом микрофлорой закваски, появляются только при наличии в составе этой микрофлоры не менее 20–40% чувствительных к данному фагу клеток [754], когда закваску уже нужно изымать из обращения. При определении наличия на заводе фагов к конкретным штаммам для решения вопроса о возможности использования того или иного штамма этот штамм и должен служить индикаторным.

Среды для выявления фагов должны быть хорошо забуферены, чтобы получить высокую плотность клеток индикаторных штаммов, необходимую для получения газона [619]. При высокой плотности популяции титр фага может достигать 10^{10}. Нужно следить, чтобы буферные соли не связывали ионы Ca^{2+}, необходимые для осуществления литического цикла фага. Идеальным средством для этой цели является β-глицерофосфат.

Образцы сыворотки нужно отбирать в конце обработки зерна в последних выработках, когда обсемененность сыворотки фагами макси-

мальна, или, что еще лучше, из балансового танка перед сепарированием сыворотки или из танка для хранения сыворотки после сепарирования. Следует избегать хранения сыворотки или хранить фильтраты сыворотки, свободные от бактерий, при температуре до 5° С, в противном случае фаги или часть из них могут дезактивироваться.

Во ВНИИМС разработана процедура проведения фагового мониторинга на сыродельных предприятиях [1628]. Основу метода выявления фага составляет набор высокочувствительных к ЛФ штаммов лактококков (каждый чувствителен к более чем 50% коллекционных фагов); в совокупности штаммы, входящие в набор, чувствительны к 100% фагов, которые хранятся в коллекции ВНИИМС. Высокочувствительные штаммы высевают классическим методом на двухслойный агар [1187] для получения сплошного газона, в качестве среды используют среду для учета мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных бактерий, вырабатываемую в коммерческих масштабах. При выявлении бактериофагов посевы необходимо выдерживать при 30 и 37° С, так как не все фаги образуют негативные колонии при каждой из этих температур [1095]. Мытник с соавт. считают, что для выявления бактериофагов нужно одновременно засевать исследуемый субстрат в плотную и жидкую среды [1531]. В качестве плотной среды они рекомендуют агар с гидролизованным молоком, жидкой – гидролизованное молоко с индикаторами бромкрезолпурпуром или метиленовым голубым. Можно использовать СДА агар и бульон. Инокулят индикаторных штаммов следует выращивать при той температуре, при которой готовят производственную закваску.

В процессе разработки схемы фагового мониторинга проведено обследование ряда сыродельных заводов, на которых наблюдались случаи потери активности производственных заквасок [1629]. Фаги, способные лизировать тест-культуры, обнаружены в 61,9% исследованных образцов молока в количестве до 10^9 мл$^{-1}$. Такая высокая обсемененность части молока бактериофагами свидетельствует о его низком бактериальном качестве. Фаги лактококков обнаружили в 25% пастеризованного молока и 33,3% пастеризованного молока при поступлении в сырную ванну, в 16,7% пастеризованного молока, подготовленного для приготовления производственной закваски. Пастеризация молока для приготовления закваски достаточна для полного уничтожения ЛФ, и их появление в нем свидетельствует или о нарушении режима пастеризации, или о загрязнении молока после пастеризации во время охлаждения, когда в заквасочнике создается разрежение и воздух из заквасочной втягивается в заквасочник.

Результаты тестов сухих бактериальных концентратов и производственных заквасок на присутствие ЛФ показаны в табл. 4.6 [1629]. Только в одном образце сухих бакконцентратов были обнаружены бактериофаги лактококков, и только в двух производственных закваска из 18 проверенных они не были найдены. Следовательно, закваски были

загрязнены фагами во время их приготовления на заводе. В 5,5% исследованных заквасок содержание фагов превышало 10^9 мл$^{-1}$, в 38,9% оно было ниже 10^9, но выше 10^7 мл$^{-1}$, еще у 38,9% оно было ниже 10^7 мл$^{-1}$, но выше 10^5 мл$^{-1}$. В закваскаx, содержащих такое количество фага, обнаруживались гомологичные фаги не только к индикаторным штаммам лактококков, но и к штаммам, входящим в состав закваски, применяемой во время обследования заводов для выработки сыра. Это неудивительно, так как при наличии в закваске 10^7 мл$^{-1}$ фага в 1 мл закваски может содержаться один мутант фагов с измененным спектром литического действия. Кислотность таких заквасок к окончанию установленного периода культивирования была ниже нормы. 25% выделенных на этих заводах фагов лизировали от 50 до 60% тесткультур, т. е. они обладали широчайшим спектром литической активности.

4.6. Частота обнаружения бактериофагов в бакконцентратах и производственных закваскаx

Объекты исследований	Количество образцов	Количество положительных проб	
		ед.	%
Концентраты	32	1	3,1
Закваски	18	16	88,9

Эти исследования показали крайне неблагополучную фаговую ситуацию на обследованных предприятиях, обусловленную отсутствием должной защиты заквасок от бактериофага во время их приготовления.

Еще хуже положение на обследованных заводах Республики Беларусь, где фаги найдены во всех образцах проверенных заквасок в количестве 10^4–10^{10} мл$^{-1}$, в сыворотке в конце обработки зерна в первой выработке в количестве 10^6–10^8, в последних выработках – от 10^4 до 10^{10} мл$^{-1}$ [1641]. Это означает, что в сырной ванне с 10 т смеси может содержаться до 10^{17} вирионов и не менее 10^8 мутантов с измененным спектром литического действия. Ясно, что в такой обстановке ни ротация штаммов, ни использование фагоустойчивых культур не предотвратят быструю потерю активности производственных заквасок. Причины неблагополучной фаговой ситуации на ряде заводов состоят в нарушениях правил приготовления заквасок, низком уровне гигиены производства. Меры исправления такой ситуации изложены в разд. 4.5. При этом чрезвычайно много в складывающейся на заводах фаговой ситуации зависит именно от коллектива завода. Так, фаговый мониторинг на заводах в Венгрии показал, что в подсырной сыворотке содержание фага на различных от заводах варьирует от 10 до 10^{10} мл$^{-1}$ [38]. В другой работе контрольные сыры вырабатывали на оборудовании, для мойки и дезинфекции которого использовали кальцинированную соду и хлорную известь, в опытных выработках использовали более прогрессивные моюще-дезинфицирующие средства и режимы санитарной обработки обо-

рудования [1189]. Контрольные сыры были оценены первым, опытные – высшим сортом.

На крупных сыродельных заводах, где опасность фаголизиса микрофлоры и убытки от этого особенно велики, может быть другая система использования заквасок и фагового мониторинга. Первое условие – высокий гигиенический уровень приготовления заквасок и производства сыра – обязательное для предприятий любой мощности. На крупных предприятиях с хорошо поставленной микробиологической службой можно использовать для выработки сыра только мутанты лактококков, нечувствительные ко всем фагам, циркулирующим на предприятии, и не выделяющие в среду умеренных фагов, к которым чувствительны другие штаммы, применяемые на данном предприятии. Фаговый мониторинг на предприятии заключается в ежедневном исследовании сыворотки и закваски на наличие бактериофагов, гомологичных к применяемым на предприятии мутантам.

С фагоустойчивыми мутантами лактококков, получаемыми путем культивирования родительских штаммов в стерилизованном молоке с сывороткой, вырабатывают больше 60% сыра Чеддер в Австралии [458].

4.6. Бактериофаги термофильных лактобактерий и мезофильных лактобацилл

Термофильные лактобациллы и стрептококк используют в производстве твердых сыров с высокими температурами II нагревания. Исследования на 8 заводах по производству сыра Эмменталь в Швейцарии показали, что фаги термофильных лактобактерий могут появляться в больших количествах в производственных закваске, сыворотке и непосредственно в сырах [1004]. В кислотообразовании во время выработки этих сыров вплоть до II нагревания активное участие принимают лактококки, на которые фаги термофильных лактобактерий не действуют [1447]. Действие фагов термофильных бактерий начинает сказываться не во время выработки крупных сыров в ванне, а позднее, во второй половине их прессования, поэтому оно может и остаться незамеченным. Однако снижение скорости развития термофильной микрофлоры создает условия для более интенсивного развития посторонней микрофлоры и ведет к снижению качества сыра.

4.6.1. Фаги термофильного стрептококка

В отличие от ЛФ, фаги термофильного стрептококка исследованы весьма скудно. Они принадлежат к группе В по Бредли, имеют изометрическую головку размером 49–53 нм, несокращающиеся отростки длиной 200–224 нм, диаметром 8–9 нм со щеткообразной пластинкой на конце или пластинки с нитями [9]. Королева с соавт. выделили фаг с размером головки 60 нм и длиной отростка 240 нм [1447], а Reinbold et al. обнаружили несколько фагов термофильного стрептококка с длиной

отростка 480–960 нм [21]. Также есть фаги с коротким отростком (порядка 130 нм) [874].

Из 81 фага термофильного стрептококка, выделенного за 30 лет из сыра и йогурта, 46 имели ДНК со специфичными системами рестрикции [128].

В сыворотке, полученной при производстве сыра Моцарелла, содержалось от $7{,}1 \cdot 10^4$ до $6{,}4 \cdot 10^6$ негативных колоний/мл фагов термофильного стрептококка; этого количества фагов достаточно для того, чтобы вывести закваску термофильных стрептококков из строя [480]. Сыворотка – главный источник фагов термофильного стрептококка на сырзаводах.

Одним из путей заражения сывороточных заквасок для производства сыров Эмменталь и Сбринц бактериофагами термофильного стрептококка является недостаточная тепловая обработка сыворотки [594].

Из 20 фагов термофильного стрептококка только 8 были моновалентными, т. е. лизировали по одному штамму термофильного стрептококка [998]. Королевой с соавт. был выделен фаг термофильного стрептококка, который лизировал 41 из 57 испытанных штаммов тест-культур [1447]. Фаги термофильного стрептококка, так же как ЛФ и фаги лактобациилл, могут образовывать лизины [754].

Термоустойчивость 17 фагов термофильного стрептококка была изучена Sozzi: при нагревании в течение 20 с все испытанные им фаги инактивировались при 90° С, ни один не инактивировался при 74° С; при 70° С в течение 10 мин инактивировались 88% фагов [992]. Таким образом, фаги термофильного стрептококка более устойчивы к нагреванию, чем ЛФ.

Из 4 проверенных фагов термофильного стрептококка два не росли в среде без Са, один рос хорошо и один рос медленно в антифаговых средах [997]. Обычные антифаговые среды, приготовленные на основе обезжиренного молока, например, «марстар», неблагоприятны для роста термофильных стрептококков и лактобацилл; для приготовления заквааски этих микроорганизмов предложены специальная среда «термостар» на базе подсырной сыворотки и фосфатно-сывороточная среда [870]. В среде с 1% фосфатов рост термофильного стрептококка был значительно лучше, чем в восстановленном молоке, в присутствии 2% фосфатов тормозился рост 3 из 4 испытанных штаммов термофильного стрептококка. Болгарская палочка лучше росла в восстановленном молоке. В присутствии гомологичных фагов штаммы термофильного стрептококка и болгарской палочки снижали скорость кислотообразования, но не прекращали рост в фосфатно-сывороточной среде. К сожалению, в фосфатно-сывороточной среде подавляется репликация не всех фагов термофильных лактобактерий.

4.6.2. Фаги лактобацилл

В сыром молоке содержится очень незначительное количество лактобацилл, поэтому оно не может служить существенным источником заражения их фагами сыродельных предприятий. Главные источники обсеменения сыроделия фагами лактобацилл находятся внутри завода.

Фаги термофильных лактобацилл на заводах встречаются значительно реже, чем фаги термофильного стрептококка. Это закономерно, поскольку активное развитие термофильного стрептококка начинается в молоке в сырной ванне, а термофильных лактобацилл – во время прессования сыра, когда условия для размножения фагов намного хуже, чем в сырной ванне. Тем не менее, они встречаются на заводах по производству крупных сыров или других молочных продуктов, вырабатываемых с участием термофильных лактобацилл, и наносят ущерб качеству продукции.

Впервые специфические для *Lbc. helveticus* фаги выделены в Финляндии при производстве Эмменталя и описаны в 1955 г. [948]. Изучение вирулентного и умеренного фагов этого вида показало, что они имеют изометрическую головку размером 53 нм, сокращающийся чехол длиной 150 нм, что свойственно фагам группы А по Бредли, продолжительность латентного периода 2 и 4 ч, выход фага 300 и 100 частиц. Авторы предполагают, что источником фагов термофильных лактобацилл в сыроделии являются лизогенные штаммы. В Финляндии, в отличие от большинства стран, крупные сыры вырабатывают из пастеризованного молока.

В Финляндии выделен фаг *Lbc. lactis* LL-K, который был причиной снижения качества крупных сыров. Продолжительность латентного периода его на *Lbc. lactis* LL-23, применяемой в производстве сыров группы Швейцарского, равнялась 150–180 мин, выход 250–300 частиц [1109], головка изометрическая, отросток длиной 170 нм и диаметром 7 нм. Kunz et al. выделили два фага термофильных лактобацилл с размерами головки 64–76 нм и длиной отростка 256–366 нм [592]. Sozzi et al. отмечают морфологическое разнообразие бактериофагов лактобацилл [993].

Обсемененность сырзаводов фагами мезофильных лактобацилл ранее не изучалась, потому что они почти не использовались в производстве сыров. Применение *Lbc. plantarum* в составе заквасок и концентратов со специфическим антагонистическим действием на вредные для сыра бактерии привело к массивному заражению заводов их бактериофагами [1460, 1462]. Фаги к этому виду были обнаружены на всех заводах, где применяют закваски с мезофильными лактобациллами, в т. ч. в 83,8% образцов сыворотки и 75% образцов закваски в количестве 10^8–10^9 $мл^{-1}$ (Перфильев, 1998). Они имели изометрические головки диаметром 63–72 нм, отросток длиной 150–171 нм (рис. 4.1 в [1461]). Обнаруженные на заводах фаги лизировали 17% коллекционных штаммов *Lbc. plantarum* (в основном штаммы, применяемые в составе заквасок). Фаги дезактивировались хлорсодержащими растворами с концентрацией активного хлора 200 $мг/дм^3$, выдерживали пастеризацию молока при 76° С в течение 20–25 с, при 95 °С их титр за 5 мин снижался на 6–7 порядков; они более термоустойчивы, чем ЛФ. Эффективность применения бакконцентратов с наличием в их составе штаммов *Lbc. plantarum* – антагонистов технически вредной микрофлоры – снижалась на заводах, где обнаруживали фаги, способные лизировать используемые штаммы лактобацилл.

Важнейшим источником *Lbc. plantarum* является силос. В силосе были обнаружены бактериофаги к этому виду [1739].

Адсорбция фага Л, лизирующего *Lbc. casei* YIT 9018, прекращалась при содержании в среде Мурата 0,15% пирофосфата и множественности заражения 0,1 (отношение количества частиц фага к количеству клеток лактобацилл) и 0,175% пирофосфата при множественности заражения 1,0 [759, 817]. Наличие в среде аргинина и лизина оказало сильное, гистидина – слабое антифаговое действие на фаги мезофильных гомоферментативных палочек: максимальная скорость их дезактивации наблюдалась при содержании в среде 0,7 М аргинина или лизина [1739]. Диэтилпирокарбонат в концентрации свыше 10,0 мМ инактивирует 90%, в концентрации 30 мМ – 100% этих фагов [1739]. Эти концентрации бактерицидны и для самих лактобацилл, поэтому ДЭПК применяют только для холодной дезинфекции.

Фаги лактобацилл, так же как ЛФ, образуют лизины, действующие на многие виды и штаммы лактобацилл [754]. Фаги, образующие лизины, имеют ожерелье вокруг негативных колоний, так же как ЛФ.

Среди лактобацилл, по крайней мере мезофильных, явление лизогении распространено достаточно широко, что может быть причиной очень узкого литического спектра фага P1-1, лизирующего штаммы *Lbc. casei* и *Lbc. plantarum* 28 и циркулирующего на сыродельных заводах СНГ.

4.7. Заключение

Должная активность молочнокислых бактерий в производстве любого сыра – необходимое условие получения качественного продукта. Наиболее частой и трудноустранимой причиной снижения активности молочнокислой микрофлоры заквасок в сыроделии является бактериофаг.

Фаги молочнокислых бактерий попадают на заводы с молоком, пастеризация молока их уничтожает не полностью. На заводах идет активная репликация фагов даже при нормальной скорости молочнокислого брожения, поскольку у фагорезистентных штаммов в процессе размножения часть клеток становится чувствительной к фагам. Особенно высокое содержание бактериофагов бывает в сыворотке и в производственных закваске при нарушении санитарных правил их приготовления. *Сыворотка и производственные закваски – главные источники фагов на производстве.*

Для предупреждения фаголизиса микрофлоры закваски необходима полная изоляция помещений, в которых готовят закваски, от остальных помещений, особенно сыродельных и мест хранения и переработки сыворотки. Альтернативой может быть приготовление заквасок в герметичных заквасочниках с небольшим избыточным давлением внутри заквасочника, создаваемым непрерывной подачей стерильного воздуха, и оборудованных устройствами для асептического внесения инокулята. Практически полностью решает проблему бактериофага внесение бактериальных концентратов непосредственно в сырную ванну, т. е. без приготовления на заводе производственных заквасок.

Важную роль в защите микрофлоры заквасок от действия бактериофага играет повышение фагорезистентности входящих в ее состав штаммов.

ГЛАВА 5

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЗАКВАСКИ: СОСТАВ, ПРИМЕНЕНИЕ

5.1. Общие понятия

Под *бактериальными закваскаами* понимают виды и штаммы молочнокислых бактерий, применяемые в производстве сыров, кислосливочного масла и кисломолочных продуктов. Название «закваска» произошло от слов «квасить» или «сквашивать», т. е. повышать кислотность молока с целью получения сгустка. При выработке сычужных сыров молочный сгусток образуется под действием молокосвертывающих энзимов, однако и в этом случае одной из главных функций микрофлоры закваски является трансформация молочного сахара в органические кислоты, которая происходит в основном после свертывания молока во время обработки сгустка и на первой стадии созревания сыра. Это нужно учитывать при анализе технологического процесса. Так, медленное свертывание молока в сырной ванне во время выработки сычужных сыров некоторые связывают с низкой активностью закваски, хотя этот фактор не влияет на скорость сычужного свертывания. Свертывание молока в производстве сычужных сыров должно произойти до начала активного роста микрофлоры заквасок.

Микрофлора закваски состоит из специально отобранных видов и штаммов молочнокислых бактерий, которые вносят в молоко после его тепловой обработки, уничтожающей большую часть природной (дикой) микрофлоры молока. До конца XIX века сыры вырабатывали на природной микрофлоре, попадающей в молоко из внешней среды, для сохранения которой молоко не подвергали тепловой обработке. В состав этой микрофлоры, кроме молочнокислых бактерий, входило много разных микробов, большинство из которых могли ухудшить качество сыров.

По физиологическому состоянию микрофлоры *закваски* можно разделить на *консервированные*, в которых микрофлора находится в состоянии анабиоза, и *активные*. Первые вырабатывают централизованно с использованием в качестве консервирующего фактора чаще всего дегидратации или замораживания. Сухие закваски имеют высокую стойкость, что позволяет их транспортировать на большие расстояния и хранить до трех и более месяцев на заводах. Вырабатывают также жидкие закваски, в которых в качестве консервирующего фактора используют 10–20% раствор глицерола и высокие концентрации сухих веществ молока [907], но они обладают более низкой стойкостью в хранении и поэтому могут транспортироваться только на короткие расстояния. В России жидкие закваски вырабатывают редко. Консервированные закваски используют как посевной материал для приготовления

активных заквасок. Консервированные закваски и препараты (концентраты) далее будут называться просто заквасками и препаратами.

Активные закваски готовят путем реактивации и размножения до требуемого количества клеток микрофлоры консервированных заквасок. Реактивацию и размножение проводят в молоке или благоприятных для роста микрофлоры заквасок средах, которые готовят на молочной основе. Приготовление заквасок на немолочных средах, например, на средах, в которых источником энергии является не лактоза, а глюкоза, может привести к накоплению биомассы неактивных в молоке клеток молочнокислых бактерий, не сбраживающих лактозу. *Активные закваски*, которые вносят в молоко, подготовленное для выработки сыра или кисломолочных продуктов, называют *производственными*, а те, которые по активности микрофлоры можно использовать как производственные, но биомасса которых недостаточна для переработки планируемого количества молока, – *пересадочными*.

Во второй половине 60-х годов в технологии заквасок произошли радикальные изменения, заключающиеся в замене молока для накопления биомассы молочнокислых бактерий специальными лактозосодержащими средами, позволяющими отделить клетки от среды, поддерживать pH среды на заданном уровне, благоприятном для выращиваемого микроорганизма, сконцентрировать биомассу отделением бактериальных клеток от культуральной среды, применить защитные среды и лиофилизацию для консервирования биомассы [654, 1509]. Концентрация клеток в заквасках, их активность, стойкость в хранении резко возросли. Закваски, вырабатываемые по новой технологии, получили название «бактериальные концентраты или препараты» (БК или БП). В настоящее время промышленность вырабатывает закваски (БЗ) и препараты (БП или БК) по одинаковой технологии, за исключением количества добавляемого для стандартизации содержания жизнеспособных клеток наполнителя, а различаются они только концентрацией клеток: в *консервированных заквасках* концентрация молочнокислых бактерий меньше 10^{10} КОЕ/г или мл (обычно $(1–2)\cdot10^{9}$ КОЕ/г или мл), в препаратах и концентратах, вырабатываемых в России, содержится после стандартизации не менее $(100–150)\cdot10^{9}$ КОЕ/г (мл). При использовании БЗ требуется несколько их пересадок в молоке для получения необходимого количества клеток лактобактерий; замена заквасок препаратами исключает необходимость в пересадках или сокращает их до одной.

5.2. Функции бактериальных заквасок

Микрофлора заквасок выполняет в производстве сыра четыре функции:

- совместно с молокосвертывающими энзимами трансформирует основные компоненты молока в соединения, обусловливающие органолептические показатели сыра;

- ограничивает или подавляет размножение микрофлоры, способной ухудшать показатели реализации и безопасности сыра;
- создает в сыре условия, обеспечивающие трансформацию основных компонентов молока в нужном направлении;
- ускоряет синерезис сычужного сгустка, повышая его кислотность.

Микрофлора заквасок должна:

- сбраживать углеводы и цитраты молока с оптимальной скоростью и образованием нужных продуктов брожения;
- обладать определенной протеолитической и липолитической активностью, поскольку вкусовые и ароматические соединения сыров в основном образуются в результате энзиматического расщепления белков и липидов молока;
- не вызывать пороков сыра;
- сохранять свои свойства в течение установленных сроков хранения и применения в регламентированных нормативно-технической документацией условиях;
- не содержать посторонних бактерий и бактериофагов, способных лизировать входящие в их состав микроорганизмы.

Кислотообразующая активность, характеризующая скорость сбраживания лактозы, – важнейший показатель заквасок, так как отклонение скорости кислотообразования во время выработки сыра в любую сторону от оптимального уровня наносит большой ущерб качеству сыра.

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 выработки сыра, технологии сыра, санитарного состояния предприятий, в частности фаговой ситуации. Так, например, при использовании в производстве мелких сыров температур II нагревания 40–42° С, которые нередко применяют при переработке сычужновялого молока, нецелесообразно использовать закваски, в которых главным кислотообразующим микроорганизмом является сливочный лактококк, поскольку он более чувствителен к этим температурам, чем другие лактококки. При этом нельзя отбраковывать при подборе микрофлоры в поливидовые и многоштаммовые закваски виды и штаммы лактобактерий только на основании низкой кислотообразующей активности, поскольку в таких заквасках важна не кислотообразующая активность отдельных штаммов, а суммарная активность всей микрофлоры заквасок. Известно, что виды и штаммы с высокой кислотообразующей активностью в молоке стимулируют рост медленно растущих штаммов, а медленно растущие штаммы расщепляют горькие пептиды, которые чаще всего образуются под действием молокосвертывающих энзимов и быстро растущих в молоке штаммов лактококков, а также образуют соединения, участвующие в формировании органолептических показателей сыров. Закваски должны

представлять комбинации штаммов с высокой и низкой кислотообразующей активностью.

Использование весной для выработки мелких сыров заквасок, в которых газообразующие лактобактерии представлены только лейконостоками, может привести к выработке сыра без рисунка («слепой» сыр), так как в весенний период в молоке низкое содержание марганца, в повышенных дозах которого нуждаются лейконостоки. В случае медленного развития лейконостоков в сырах долго остаются несброженными цитраты, что активизирует развитие цитратферментирующей микрофлоры незаквасочного происхождения, способной вызвать в сырах пороки вкуса, запаха и рисунка. Микрофлора заквасок для производства крупных сыров должна обеспечить достаточно быстрое сбраживание лактозы и галактозы, образующейся в среде при сбраживании лактозы термофильными стрептококками (гл. 3). Галактоза может стимулировать развитие в сырах гетероферментативных лактобацилл незаквасочного происхождения, способных вызвать самокол, пороки вкуса и запаха сыров.

Весной для выработки мелких сыров целесообразно использовать закваски, в состав которых входят мезофильные лактобациллы, по трем соображениям: кислотообразующая активность лактококков в весеннем молоке снижается, а лактобациллы стимулируют рост и кислотообразование лактококков; весной ухудшается фаговая ситуация на заводах, а бактериофаги лактобацилл встречаются сравнительно редко; многие штаммы мезофильных лактобацилл обладают специфическим антагонизмом к маслянокислым бактериям, которых особенно много в весеннем молоке. Однако в этом случае важна доза и свойства используемых штаммов лактобацилл. Доза их должна обеспечивать оптимальную скорость нарастания кислотности во время выработки сыров (гл. 2 и 11).

Влияние микрофлоры заквасок на вкус, запах и консистенцию сыров проявляется через ингибирование развития посторонней микрофлоры и продукты собственного метаболизма. Оно определяется видовым и штаммовым составом микрофлоры, а также соотношением между некоторыми видами лактобактерий в составе закваски. Слишком высокое содержание газообразующих бактерий в закваске, обусловленное или неправильным подбором микрофлоры, или лизисом не образующих газ лактококков под действием бактериофагов, может привести к раннему вспучиванию сыра, появлению многих пороков вкуса и запаха. Передозировка газообразующих бактерий в закваске особенно опасна при использовании для выработки сыра молока, в котором до пастеризации содержалось больше $2 \cdot 10^6$ КОЕ/мл психротрофов. Содержание лейконостоков в мелких сырах должно быть не более $(2–4) \cdot 10^8$ КОЕ/г, что достигается при внесении в молоко с закваской $(1–3) \cdot 10^5$ КОЕ/мл (гл. 3).

Иное положение в отношении содержания лейконостоков в заквасках для сыров типа Рокфор, в которых плесневые грибы должны расти по всей массе сыра [1570]. Возможность такого роста обеспечивается наличием большого количества пустот в сырной массе, возникающих в ре-

зультате образования CO_2 лейконостоками (газообразующая активность диацетильного лактококка ограничена содержанием цитратов в молоке). В России специальных заквасок для производства сыров типа Рокфора не выпускают, поэтому их следует вырабатывать на обычных лактококковых закваска совместно с моновидовыми препаратами лейконостоков.

Высокое содержание в закваске для производства мелких сыров некоторых штаммов мезофильных лактобацилл приводит к появлению пряного вкуса сыра. Некоторые штаммы молочного лактококка могут вызвать фруктовый и солодовый (пригорелый) привкусы в сырах. Особо важное значение имеет отбраковка штаммов лактококков, образующих большое количество горьких пептидов (гл. 3, 11). Следует отметить, что количество горьких пептидов в сыре зависит не только от молокосвертывающих энзимов и микрофлоры заквасок, но и от технологического режима его выработки, состава посторонней микрофлоры сырого молока и сыра.

Нельзя включать в состав многоштаммовых заквасок штаммы, подавляющие или ингибирующие рост других компонентов закваски, лизогенные культуры, умеренные фаги которых могут быть вирулентными для других штаммов.

Штаммы, включаемые в многоштаммовые закваски, должны лизироваться разными бактериофагами и обладать возможно большей устойчивостью к бактериофагам, циркулирующим на сыродельных предприятиях.

5.3. Типы заквасок

По способу консервации микрофлоры закваски и препараты подразделяются на *сухие*, *замороженные* и *жидкие*. В России вырабатываются в основном сухие закваски, поскольку замороженные требуют специальных дорогостоящих контейнеров для транспортировки, возврат которых предприятию резко увеличивает затраты на транспортировку заквасок. Жидкие закваски также менее удобны для транспортировки и менее стойки в хранении по сравнению с сухими заквасками.

В мировой практике используют *закваски известного и неизвестного видового и штаммового состава*. К закваскам неизвестного состава относятся симбиотические комбинации микроорганизмов, когда-то полученные из различных природных субстратов, например, самокваснных молочных продуктов, подсырной сыворотки и длительное время поддерживаемые и используемые в производстве в виде комбинаций. Состав микрофлоры приготавливаемых из них производственных заквасок в случае необходимости корректируется. Так, если газообразующая активность в производственной закваске слишком низкая или отсутствует, то в исходную комбинацию или в производственную закваску вносят какое-то количество диацетильного лактококка или лейконостоков.

В некоторых странах, например, в Италии, довольно широко применяются «*сывороточные*» закваски для производства сыров с высокими температурами II нагревания. Для их приготовления сыворотку от

предыдущей выработки в течение 24 ч выдерживают при 42–45° С, что обеспечивает размножение в сыворотке термофильной молочнокислой микрофлоры и вымирание большей части мезофильных бактерий [107, 360]. Недостатком сывороточных заквасок является непостоянный состав, в частности, в них всегда обнаруживается достаточно большие количества *Lbc. fermentum* – гетероферментативного вида термофильных лактобацилл, способного вызывать самокол и вспучивание сыра [360]. С другой стороны, некоторые штаммы этого вида обладают антагонизмом по отношению к маслянокислым бактериям [107], что является положительной стороной сывороточных заквасок. Кроме этого, их микрофлора обычно нечувствительна к бактериофагам, циркулирующим на том заводе, где получена сыворотка. В России закваски неизвестного состава, включая сывороточные, в промышленном сыроделии не применяются. За рубежом они также вытесняются закваскими с известным видовым и штаммовым составом.

Закваски и препараты могут быть *моно-* и *поливидовыми*. Обычно для формирования органолептических показателей сыров нужно несколько видов молочнокислых бактерий. Исключением является Чеддер, который вырабатывают при участии только сливочного или молочного лактококка. При использовании моновидовых заквасок или препаратов для приготовления поливидовых заквасок в молоко вносят несколько моновидовых заквасок или препаратов, соблюдая требуемое соотношение между видами, или готовят несколько производственных заквасок и вносят их в молоко для изготовления продукта в требуемых соотношениях. Второй способ более трудоемкий, но он обеспечивает близкое к оптимальному соотношение между видами молочнокислых бактерий в продукте, которое труднее получить при приготовлении пересадочной и производственной заквасок из смеси консервированных заквасок и препаратов. Иногда приготовление нескольких производственных заквасок – вынужденная мера, например, при выработке сыров с высокими температурами II нагревания, где используются лактобактерии с разными оптимальными температурами.

Очень удобны для использования поливидовые закваски, содержащие все необходимые для производства сыра виды микроорганизмов и штаммы, нечувствительные или чувствительные к разным бактериофагам. Так, например, для сыров с низкими температурами II нагревания некоторые авторы рекомендуют закваски, содержащие сливочный лактококк (75%), диацетильный лактококк (15%), молочный лактококк (5%) и сливочный лейконосток (5%) [962]. Однако соотношение между штаммами и видами лактобактерий в поливидовых закваскаx и препаратах может изменяться в широких пределах. В России применяют оба типа заквасок и препаратов, но поливидовые применяются значительно чаще.

Вырабатываемые в России закваски и препараты содержат по нескольку штаммов лактококков, чувствительных к разным бактериофагам; ежемесячно Угличская биофабрика выпускает несколько партий

лактококковых препаратов и заквасок, отличающихся штаммовым составом [1569, 1570].

По отношению к температуре закваски делят на *мезофильные* (оптимальные температуры для роста микрофлоры около 30° С) и *термофильные* (соответственно 38–42° С).

Большинство поливидовых мезофильных заквасок и препаратов содержит только лактококки и лейконостоки. Они бывают четырех типов: содержащие только сливочный и молочный лактококки или один из этих подвидов (*0-закваски*), содержащие из газообразующих лактобактерий только диацетильный лактококк (*Д-закваски*), содержащие из газообразующих только лейконостоки (*Л-закваски*) и содержащие оба типа газообразующих бактерий (*ДЛ-закваски*) [1569]. В зарубежной литературе лейконостоки часто обозначают индексом «В» – первой буквой старого названия лейконостоков «бетакокки»), закваски с лейконостоками называются, соответственно, *В* и *DB-заквасками* (в отечественной литературе *Л* и *ДЛ-заквасками*).

0-закваски применяют для производства сыров типа Чеддер, в которых рисунок («открытая структура») считается пороком. Их можно использовать и для выработки сыров, формуемых насыпью, в которых рисунок формируется не в результате жизнедеятельности бактерий. Различия в свойствах Д-, Л- и ДЛ-заквасок показаны в гл. 3.

5.1. Бактериальные закваски (БЗ), препараты (БП) и концентраты (БК) для сыроделия, вырабатываемые в России

Название	Состав микрофлоры[1)]	Назначение[2)], примечание
1	2	3
А. Бактериальные препараты и концентраты		
БП-У-4	Л, К, Д или Л, К, Д, Б	Тн, Тв, Мг, Р, Км
БК-У-С	Л, К, Д	Тн, Тв, Мг, Р, Км
БП-У-5А	Л, Д, Б, Пп [3)]	Тн. Обладает специфическим антагонизмом к БГКП
Биоантибут	Л, Д, Б, Пп [3)]	Тн. Со специфическим антагонизмом к маслянокислым бактериям
БП-У-6	К, Л, Д, Б [4)]	Тн, Тв, Мг, Р, Км
Бифилакт-АД	БФ, Д	Км, диетические сыры
Бифилакт-У	БФ, Л, К, Д, Т	Км, диетические сыры
БК-У-МСТ	Л, К, Д	Мг, творог
БК-У-П	Пп	Применяют вместе с БП-4, БК-С и БП-6 в Тн для усиления антагонизма к маслянокислым бактериям
БК-У-Л	Б	Применяют вместе с БК-С для улучшения вкуса и рисунка Тн
БП-ТМБ	Пл, Пх, Т	Тв
ПКБ	ПК	Тв

Продолжение таблицы 5.1

1	2	3
КСК	ПК, Пп	Тв. Препарат пропионовокислых бактерий и мезофильных лактобацилл
КСК-А		Тв. То же, что КСК + штамм термофильных лактобацилл – антагонист маслянокислых бактерий
Б. Бактериальные закваски		
БЗ-СМС	Л, К, Д, Б	Тн, Тв, Мг, Р, Км
БЗ-СМП	Пк	Применяют с лактококковыми заквасками для повышения скорости кислотообразования при производстве сыров Р, Российского, Чеддера
БЗ-СТП	Пх, Пл	Тв
БЗ-СТС	Т	Тв
КС-1 [5]	К, Д, Б	Тн, Мг, творог
КС-2 [5]	К, Д	Тн, Мг, творог
Буковинская	К, Д	Буковинский, Львовский, Славутич

[1]Л – молочный лактококк; К – сливочный лактококк; Д – диацетильный лактококк; Б – лейконостоки; Пк – *Lbc. casei*; Пп – *Lbc. plantarum*; Пл – *Lbc. lactis*; Пх – *Lbc. helveticus*; ПК – пропионовокислые бактерии; Пф – *Lbc. fermentum*; Т – термофильный стрептококк; БФ – бифидобактерии.

[2]Тн – твердые сыры с низкой температурой II нагревания; Тв – твердые сыры с высокой температурой II нагревания; Мг – мягкие сыры; Р – рассольные сыры; Км – кисломолочные сыры.

[3]БК-У-5А отличается от Биоантибут тем, что в него включают штаммы лактококков, обладающие специфическим антагонизмом к БГКП, и вдвое большей концентрацией клеток Пп;

[4]БП-У-6 отличается от других лактококковых препаратов тем, что в нем доминирует не молочный, а сливочный лактококк;

[5]Каунасские жидкие закваски.

В мировой практике используют мезофильные закваски, в которых из кислотообразователей могут доминировать сливочный или молочный лактококки. Главное отличие между ними с точки зрения применения состоит в отношении к температуре II нагревания (разд. 3.2.4). Закваски с доминированием сливочного лактококка рекомендуется применять в производстве сыров с температурой II нагревания не выше 37° С.

Кроме основных лактококковых и лейконостоковых заквасок и препаратов в России применяются некоторые другие поли- или моновидовые препараты и закваски с дополнительными специфическими функциями, перечень которых приведен в табл. 5.1. Из них следует отметить Биоантибут, в состав которого входят штаммы *Lbc. plantarum*, обладающие специфическим антагонизмом к маслянокислым бактериям. Этот препарат применяют для выработки сыров с низкими температурами II нагревания весной и осенью, когда молоко наиболее загрязнено спорами анаэробов.

В БП-У-5А все штаммы обладают специфическим антагонистическим действием на БГКП, а штамм *Lbc. plantarum* и на маслянокислые бактерии.

Заслуживают внимания препараты ТМБ, в который входят термофильный стрептококк и термофильные палочки, и КСМ/КСМ-А, которые включают пропионовокислые бактерии, термофильные и мезофильные лактобациллы [1674, 1675]. В состав КСМ-А входит также штамм термофильных лактобацилл, обладающий специфическим антагонистическим действием по отношению к маслянокислым бактериям. Препараты такого типа иностранными фирмами не производятся. КСМ применяют вместе с ТМБ и лактококковыми препаратами для выработки Советского сыра.

5.4. Приготовление и применение

На сыродельных заводах микрофлору заквасок и препаратов переводят из анабиоза в активное состояние и размножают до требуемых для производства количеств. Приготовление производственных заквасок из консервированных – чрезвычайно ответственная операция, поскольку на этом этапе закваску можно загрязнить бактериофагами и посторонней микрофлорой и сделать ее непригодной для выработки сыров.

Производственные закваски готовят из консервированных пересадочным способом, показанным на рис. 5.1. Для приготовления этим методом производственной закваски одну порцию сухой закваски, например, БЗ-СМС, с соблюдением правил асептики вносят примерно равными порциями в четыре колбы с 500 мл стерилизованного или пастеризованного в течение часа при 95° С молока в каждой, заквашенное молоко инкубируют при 29–31° С до сквашивания, которое обычно происходит через 14–18 ч. Перед внесением сухой культуры в молоко ее растворяют в 20–30 мл этого же молока в стерильной ступке со строгим соблюдением правил асептики. На следующий день из одной колбы с первичной закваской готовят вторичную закваску, три оставшиеся ставят в холодильник с температурой не выше 8° С. Для приготовления вторичной закваски первичную закваску в количестве от 2 до 5% вносят в пастеризованное при 95° С в течение 30–45 мин и охлажденное до 32–30° С молоко, тщательно перемешивают сразу после внесения и спустя 1–1,5 ч, после чего инокулированное молоко оставляют в покое при 29–31° С до свертывания, которое происходит при 2 %-ной посевной дозе через 6–10 ч, при 5 %-ной – через 5–7 ч. После свертывания молока вторичную закваску или сразу используют для приготовления производственной закваски, или быстро охлаждают до температуры ниже 8° С и хранят при этой температуре до использования.

На третий день из второй колбы с первичной закваской готовят вторую партию вторичной закваски, а из вторичной закваски, приготовленной в предыдущий день, готовят производственную закваску по тому же режиму, по которому готовили вторичную закваску. Очень важно производственную закваску быстро охладить сразу после приготовления (при достижении кислотности 80–90° Т), так как дальнейшая вы-

держка закваски при температуре выращивания снижает количество и активность бактериальных клеток лактобактерий. Размер посевной дозы, а значит, и время свертывания можно менять, сообразуясь с режимом работы заквасочного отделения, памятуя при этом, что чем быстрее свертывается молоко, тем ниже опасность размножения в закваске посторонней микрофлоры и бактериофага, попадающих в закваску при нарушении правил асептики при инокуляции.



Рис. 5.1. *Схема приготовления заквасок трехпересадочным способом (I – БЗ или БП; II – первичная (лабораторная) закваска; III – вторичная (пересадочная) закваска; IV – производственная закваска; V – сыродельная ванна)*

В день использования последней колбы с первичной закваской готовят новую партию первичной закваски. Если при использовании первой партии активность производственной закваски не снижалась, о чем можно судить по ее кислотности или скорости нарастания кислотности сыворотки во время выработки сыра и pH сыров после прессования, то для приготовления второй партии первичной закваски можно брать консервированную закваску той же даты выработки, в противном случае требуется сменить дату выработки исходной закваски, так как заквaски разных дат выработки имеют разный штаммовый состав, а следовательно, чувствительны к разным видам бактериофагов. Смена штаммового состава заквасок с целью защиты их от бактериофагов называется *ротацией* заквасок.

Из одной порции сухой БЗ-СМС трехпересадочным методом приготовляют при 2 %-ной посевной дозе 1250 л производственной закваски, при 5 %-ной – 200 л производственной закваски.

При использовании других видов консервированных заквасок могут меняться температура и продолжительность культивирования, посевные дозы, а также может возникнуть необходимость обогащения молока стимуляторами роста при приготовлении закваски медленно растущих в молоке видов и штаммов лактобактерий (*Leuconostoc*, *Lbc. plantarum*). Преимущества трехпересадочного метода – небольшой расход консервированных заквасок, высокая активность клеток в готовых заквасках, недостаток – большая опасность загрязнить закваску во время пересадок посторонней микрофлорой и бактериофагами, длительный процесс приготовления производственной закваски.

За рубежом обычно используют следующий режим приготовления пересадочных и производственных мезофильных заквасок: посевная

доза 0,5%, температура 21° С и продолжительность инкубации 16 ч [180]. Этот режим удобен для небольших заводов, на которых выработку сыра проводят один раз в день: молоко для приготовления закваски инокулируют в конце смены, закваску на ночь оставляют при комнатной температуре, к началу выработки сыра на следующий день она готова к употреблению. Главный недостаток этого режима большая опасность репродукции бактериофагов до высокого уровня. При 21° С время генерации лактококков в молоке равно 2,2 ч, при 30° С – 1 ч [180]. Для достижения максимального выхода биомассы лактококков при посевной дозе 0,5% нужно 7,5 генерации, на что должно быть затрачено при 30° С 7–8 ч, при 21° С – около 16 ч.

Схема использования БП и БК показана на рис. 5.2. Существуют три метода применения препаратов: I – непосредственное внесение в молоко для выработки сыра; II – приготовление производственной закваски из препарата (концентрата) без приготовления пересадочных заквасок; III – внесение в молоко для выработки сыра или приготовления производственной закваски после кратковременной активизации препарата.

Непосредственное внесение препаратов и концентратов в молоко для выработки сыра исключает их заражение посторонней микрофлорой и бактериофагом, повышает выход сыра по сухому веществу на 0,27% [228], но сопряжено с очень большим их расходом, а стоят препараты дорого. Тем не менее предприятия должны иметь запас препаратов для непосредственного их использования в критических ситуациях, когда задержка переработки молока из-за отсутствия закваски может принести большие убытки, перекрывающие стоимость концентратов. Из углических препаратов для непосредственного внесения в сырную ванну наиболее пригоден БК-С.

Для широкого использования метода непосредственного внесения концентратов в молоко для выработки сыра нужно совершенствовать производство и снижать стоимость препаратов. В Англии непосредственное внесение концентрированных сублимированных препаратов в смесь для выработки сыра уже применяется в промышленных масштабах [612].



Рис. 5.2. *Схема применения бактериальных препаратов и концентратов*

Расход препаратов (БП-4, БК-С) при их использовании для приготовления производственной закваски в настоящее время составляет одну пор-

цию (~1 г) на 300 л закваски, т. е. примерно в четыре раза выше, чем расход БЗ при использовании трехпересадочным методом. При дозе внесения производственной закваски в молоко 0,5%, расход препарата составит одну порцию на 6 т сыра. Однако повышение затрат на БП по сравнению с затратами на БЗ во много раз перекрывается снижением расходов на приготовление производственной закваски, а главное – повышением качества сыров, поскольку исключение пересадок резко сокращает случаи загрязнения производственной закваски посторонней микрофлорой и потери ее активности из-за действия бактериофага.

При внесении 1 г препарата на 300 л молока при приготовлении производственной мезофильной закваски молоко свертывается за 14–18 ч. При столь длительном свертывании попадание в молоко даже небольших количеств технически вредной или патогенной микрофлоры, а также бактериофагов может привести к их размножению до высокого уровня, что нанесет неисправимый ущерб показателям качества и безопасности сыров. Продолжительность свертывания можно сократить примерно в два раза, если перед внесением в молоко для приготовления производственной закваски препараты активизировать путем двух-трехчасовой выдержки в небольшом объеме стерилизованного молока (1 г препарата в 1–3 л молока) при оптимальной температуре. Во время активизации микрофлора препаратов успевает пройти фазу задержки роста и начинает активно размножаться сразу после внесения в молоко для производственной закваски или выработки сыра. Небольшой объем молока для активизации позволяет проводить ее в асептических условиях.

Активизация препарата при непосредственном внесении в молоко для выработки сыра сокращает его расход примерно в два раза. Расход препаратов в этом случае составляет от 2 до 10 порций, или от 500 до 2500 единиц активности на 1 т сыра (за ед. активности принято $250 \cdot 10^9$ КОЕ лактобактерий закваски), что в 12–120 раз выше, чем при приготовлении из препаратов производственной закваски [1569].

В табл. 5.2 показано влияние способа приготовления производственной закваски из бактериальных препаратов на развитие БГКП [1328]. Целью этого опыта было выявить преимущества приготовления производственной закваски из сухого концентрата с предварительной активизацией последнего. В качестве критерия взято развитие БГКП, которые специально и в равных дозах вносили в пастеризованное молоко, используемое для приготовления производственной закваски. Результаты опыта показывают существенное снижение скорости накопления биомассы БГКП при использовании активизированного препарата, особенно в отсутствие бактериофагов.

При приготовлении пересадочных и производственных заквасок, активизации препаратов берут сырое молоко высшего сорта, не содержащее ингибиторов бактериального роста. Тепловую обработку молока ведут в той же емкости, в которой будут готовить производственную закваску или проводить активизацию препарата. При использовании для

приготовления закваски обезжиренного молока отобранное для его получения молоко высшего сорта сепарируют в первую очередь, после мойки и санитарной обработки сепаратора.

5.2. Влияние способа приготовления и заражения закваски бактериофагами на развитие БГКП

Способ приготовления закваски	Наличие бактериофага	Удельная скорость роста БГКП за 6 ч, $ч^{-1}$	Количество БГКП в 1 мл закваски	
			6 ч	24 ч
Беспересадочный (II)	–	0,70	1800	$1{,}75 \cdot 10^5$
	+	0,97	12000	$2{,}50 \cdot 10^5$
С активизацией препарата (III)	–	0,38	250	25
	+	0,42	600	$1{,}11 \cdot 10^5$

Допускается вносить в молоко для приготовления заквасок, активизации препаратов и непосредственно для выработки сыра стимуляторы роста микрофлоры закваски. В России для этой цели выпускаются биологические препараты Актибакт-Углич-М и Биолакт, которые вносят в молоко до термической обработки в количестве 200 г на 100 л или 0,05–0,1% [1569, 1645]. Внесение в молоко для активизации бактериальных препаратов Актибакт-У-М вдвое сокращает их потребность. Внесение препарата Биолакт в молоко для выработки мелких сычужных сыров ускорило размножение и кислотообразующую активность микрофлоры закваски, сократило время обработки сырного зерна, улучшило органолептические показатели сыра и сократило продолжительность его созревания на 24–28%. Препараты особенно рекомендуется применять весной, когда активность лактококковой микрофлоры в молоке часто бывает низкой. В стимулирующих препаратах нельзя проводить гидролиз лактозы, так как в этом случае в производственной закваске могут активно размножаться лактозонегативные мутанты лактококков, что снижает активность молочнокислого процесса в сырной ванне, активизирует рост технически вредной и патогенной микрофлоры.

За рубежом распространены сухие среды для приготовления производственных заквасок, в основе которых лежит сухое обезжиренное молоко высокого качества, стимуляторы роста медленно размножающихся в молоке видов и штаммов лактобактерий [133, 717, 1168]. В среды включают соли (цитраты или фосфаты) для связывания ионов Ca^{2+}, необходимых для репродукции бактериофагов, и буферные соли (чаще тримагнийфосфат) для поддержания pH среды на благоприятном для развития лактококков уровне (5,1–5,2). Применение сухих сред удорожает производство заквасок, но снижает степень репликации бактериофагов во время приготовления закваски на молочных заводах, что улучшает качество сыра и окупает затраты на покупку сред. Масса микрофлоры в этих закваске благодаря контролю pH выше, чем в молоке, что позволяет снизить дозу закваски.

Добавление в молоко 0,005–1,0% лецитина заметно увеличивает кислотообразующую активность сливочного лактококка [1567].

Очень важно регулирование pH среды. Установлено, что выдержка лактококков в среде с pH ниже 5,0 приводит к снижению активности цитоплазматических энзимов (Harvey, 1965), повреждает мембрану и вызывает утечку содержимого клеток (Marquis et al., 1973) [628]. Лактококки после выдержки при таком pH показывают при пересадках увеличение фазы задержки роста и пониженную активность. В размножающихся клетках лактококков pH содержимого на единицу выше, чем в окружающей среде; для поддержания этого градиента pH требуется энергия. В незабуференных средах размножение и гликолиз у лактококков прекращается при pH 4,4–4,2, что должно привести к исчезновению градиента pH между средой и клеткой. Под воздействием высоких концентраций ионов водорода происходит денатурация протеинов в клетке, что снижает их активность. Максимальную активность при инокуляции молока показывают закваски с pH 5,0, когда количество клеток достаточно велико и они не получили повреждений, обусловленных низким pH [996]. Следовательно, очень важно культивировать закваски в средах с внутренним контролем pH, достигаемым ограничением в них содержания углеводов и наличием буфера, так чтобы pH в них не снижался ниже 5,0 [1166, 1182]. Следует отметить, что многие авторы считают, что закваску нужно вносить в молоко для выработки сыра при pH 4,6–4,7, когда она содержит 0,6–0,7% молочной кислоты (67–77° Т), т. е. сразу после свертывания молока [907].

Очевидной казалась бы необходимость накопления биомассы закваски при оптимальной температуре для роста ее микрофлоры, так как в этом случае время приготовления закваски будет минимальным, что уменьшит возможности для размножения посторонней микрофлоры. Однако в случае использования заквасочников без автоматической системы регулирования температуры по заданной программе температуру культивирования и дозу инокулята нужно выбирать с таким расчетом, чтобы закваска приобретала готовность во время присутствия оператора на рабочем месте, который должен немедленно после достижения готовности закваски включить систему ее охлаждения и тем самым предупредить снижение активности закваски, вызываемое экспозицией клеток при низком pH. Начинать охлаждение можно сразу после свертывания молока при снижении pH до 4,6. При таком pH мезофильные закваски обладают высокой активностью [907]. При 4–6° С закваска с оптимальной кислотностью может храниться без снижения активности несколько дней [324, 1264]. При более высоких температурах активность закваски быстро снижается (Q_{10} в интервале температур от 10 до 37° С равен 2,2–3,5). Обычно молоко при приготовлении закваски инокулируют вечером с таким расчетом, чтобы закваска приобретала готовность утром в начале работы. Продолжительность накопления биомассы лучше регулировать объемом инокулята, так как отклонение от оптимальной температуры культивирования может изменить соотноше-

ние между входящими в нее видами и штаммами молочнокислых бактерий. Небольшая посевная доза и оптимальная для роста лактококков температура культивирования закваски увеличивает долю диацетильного лактококка в Д-заквасках и уменьшает долю лейконостоков в Л-заквасках; небольшая посевная доза, повышенные температуры инкубации, выращивание в средах с высоким pH может превратить ДЛ-закваски в Д-закваски [336]. Диацетильный лактококк может вытеснить сливочный и молочные лактококки из Д-заквасок.

Устанавливая температуру культивирования комбинированных заквасок бифидобактерий и ацидофильной палочки на уровне 35–36° С, можно увеличить в них долю бифидобактерий, при температурах 38–39° С возрастает доля ацидофильной палочки [1337].

Зачастую температуру культивирования мезофильных заквасок снижают до 21–25° С, чтобы повысить выраженность вкуса и аромата закваски, во многом обусловленных содержанием в них диацетила [180, 1264]. Содержание диацетила в закваске при 18° С было в 1,7 раза выше, чем при 30° С, что обусловлено высокой активностью диацетилредуктазы при 30° С [54]. Однако для производства сыра важно содержание в закваске не диацетила, а лактобактерий, способных образовывать диацетил и CO_2 в сыре, доля которых в закваске должна быть ограничена, поэтому содержание диацетила не является прямым показателем качества заквасок.

Доза внесения производственной закваски в молоко для выработки сыра должна быть такой, чтобы обеспечить необходимую скорость кислотообразования во время выработки сыра, контролируемую кислотностью сыворотки и pH сыра после прессования. Она зависит от самой закваски, качества молока, технологии сыра. Желательно систематически проводить пробу на активность закваски, заключающуюся в инокуляции пастеризованного молока для выработки сыра определенным количеством испытываемой закваски (обычно 3%), выдержке инокулированного молока в течение трех часов при оптимальной температуре и фиксировании степени увеличения его кислотности. Путем систематических наблюдений устанавливается зависимость между нарастанием кислотности молока и количеством закваски, которое нужно внести в молоко для достижения оптимальной скорости кислотообразования в сырной ванне. При снижении активности закваски выясняют и устраняют причины этого снижения.

При воздействии на клетки лактобактерий сублетальных внешних факторов кислотообразующие системы инактивируются раньше, чем протеолитические, что находит практическое применение. Так, при выработке низкожирного Литовского сыра в опытном варианте в молоко вносили 3% лактококковой закваски, подвергнутой тепловому шоку (нагрев при 56–60° С без выдержки), и 0,85% этой же закваски в активной форме, в контрольном варианте – только 1% активной закваски [1745]. При одинаковой скорости увеличения кислотности сыворотки в контроле и опыте степень зрелости опытных сыров по Шиловичу была выше на 10° в 30-суточном возрасте, на 5° – в 45-суточном возрасте; опытные сыры имели более выраженный сырный вкус и аромат.

Разработан способ приготовления производственной закваски с промежуточной нейтрализацией среды [649, 1482]. Молоко для приготовления производственной закваски этим методом сначала подкисляют до pH 5,0, затем нейтрализуют до pH 7,0 добавлением NaOH, после чего выдерживают еще 2 ч при температуре приготовления закваски. Концентрация жизнеспособных клеток в такой закваске повышается в два раза по сравнению с их концентрацией в закваске, приготовляемой обычным методом, что позволяет снизить дозу внесения закваски. Недостатком этого метода является опасность загрязнения закваски во время нейтрализации посторонней микрофлорой и бактериофагом и увеличение продолжительности их размножения в закваске, обусловленное нейтрализацией среды. Метод может быть использован при нехватке емкостей для приготовления закваски.

Во ВНИИМС разработан биологический препарат Актибакт-Углич, содержащий энзиматический гидролизат белков молока, кукурузный экстракт, препарат витамина B_{12} (КМБ-12), ионы Mn, Fe, Cu, Co. Добавление 0,25% препарата в молоко повышает качество производственных заквасок (табл. 5.3) и вырабатываемого с ними сыра (табл. 5.4) [1649].

5.3. Влияние биопрепарата Актибакт-У на качество лактококковых заквасок

Свойства	Контроль	Опыт
Время свертывания, ч	14,8	12,7
Кислотность, °Т	96,2	97,7
Количество клеток, млн./мл	920	1490
Кол-во клеток газообразующих бактерий, млн./мл	640	950
Образование CO_2, мл	12,8	18,5
Ароматообразование, усл. ед.	5,8	7,7

5.4. Органолептическая оценка сыров с Актибакт-У

Показатели	Баллы	
	контр.	опыт
Сыр Голландский (n=50)		
Вкус и запах	37,2	38,0
Консистенция	23,3	23,5
Рисунок	8,0	8,4
Общая оценка	88,5	90,0
Сыр Костромской (n=66)		
Вкус и запах	36,8	37,7
Консистенция	23,1	23,4
Рисунок	7,4	7,8
Общая оценка	86,8	88,5

5.5. Заключение

Современная технология производства консервированных бактериальных концентратов позволила увеличить в них концентрацию жизнеспособных клеток молочнокислых бактерий в сотни раз, повысить стойкость в хранении по сравнению с закваскими, вырабатываемыми по старой технологии. Это сделало возможным переход от многопересадочного к беспересадочному способу приготовления производственных заквасок или непосредственному внесению консервированных заквасок в молоко для выработки сыра. Непосредственное внесение замороженных или лиофилизированных препаратов в сырную ванну без предварительного размножения на заводе, т. е. без приготовления производственных заквасок, практически ликвидирует проблему бактериофага, так как при заражении микрофлоры закваски фагами на стадии выработки сыра (за исключением кисломолочных сыров) активность закваски не успевает снизиться до опасного для качества сыра уровня. Применение метода непосредственного внесения концентратов молочнокислых бактерий в сырную ванну пока сдерживается достаточно высокой стоимостью концентратов.

Широкое распространение получают методы приготовления производственных заквасок в асептических условиях, использование фагорезистентных мутантов.

ГЛАВА 6

ПОСТОРОННЯЯ МИКРОФЛОРА И ПРЕДОТВРАЩЕНИЕ ЕЕ РАЗВИТИЯ В ТВЕРДЫХ СЫРАХ

6.1. Общие закономерности

При современном способе промышленного производства сыров, характеризуемом использованием нестерильного сырья и контактом продукта с нестерильной внешней средой, в сыры всегда попадет посторонняя микрофлора. В отличие от других молочных продуктов, большинство сыров после выработки в течение достаточно длительного времени выдерживается (созревает) в условиях, в которых размножаются не только необходимые, но и посторонние микроорганизмы. Развитие посторонней микрофлоры в сыре может ухудшить его органолептические показатели и показатели безопасности. Несмотря на возможность попадания патогенных бактерий в сыр, случаи заболевания людей, вызываемые потреблением сыров, крайне редки в сопоставлении с общими объемами их потребления.

Посторонняя микрофлора приносит вред сыру после того, как ее биомасса превысит определенный уровень, который можно назвать критической биомассой ($N_{кр}$) [1322]. Задача сыродела состоит в том, чтобы не допустить размножение микроорганизмов в сыре выше $N_{кр}$. Эта задача может быть решена использованием для выработки сыра молока надлежащего качества, соблюдением гигиены производства, правильным выбором и строгим соблюдением технологии, применением активных заквасок.

$N_{кр}$ неодинакова для различных групп микроорганизмов и определяется свойствами продуктов их жизнедеятельности, в частности вкусовым порогом, токсичностью. Заболевания, передаваемые через пищевые продукты, делят на *токсикозы*, вызываемые образуемыми в продукте микроорганизмами токсинами, и *токсикоинфекции*, при которых заболевания вызывают живые клетки возбудителя, попадающие в организм с продуктом.

Нарастание биомассы микроорганизмов в общем виде описывается уравнением:

$$N_t = N_0 \cdot e^{\mu t}, \qquad (6.1)$$

где N_t – биомасса микроорганизмов в момент времени t; N_0 – биомасса в начальный момент времени; μ – средняя удельная скорость размножения за время t.

За начальную биомассу принимают количество микроорганизмов в молоке (в смеси) в начале выработки (для молочнокислых бактерий после внесения закваски). В процессе выработки большая часть микроорганизмов молока концентрируется в сгустке, в результате чего их кон-

центрация возрастает примерно в 7 раз [1322]. Поэтому уравнение (6.1) для определения содержания бактерий в сырной массе примет следующий вид:

$$N_t = 7N_0 \cdot e^{\mu t} \qquad (6.2)$$

Степень начального обсеменения молока представителями посторонней микрофлоры (N_0) определяется следующими факторами:

- содержанием микроорганизмов в сыром молоке перед его антибактериальной обработкой (пастеризацией, термизацией, перекисно-каталазной обработкой и др.);
- видом и режимом антибактериальной обработки;
- резистентностью микроорганизма к используемому типу антибактериальной обработки;
- гигиеной выработки сыра (санитарной обработкой оборудования, трубопроводов, помещений и рассола), применением доброкачественных по микробиологическим показателям ингредиентов и материалов, отсутствием инфекционных заболеваний у лиц, связанных с производством, и соблюдением ими правил личной гигиены. От уровня гигиены производства зависит степень обсеменения молока и сыра посторонней микрофлорой после антибактериальной обработки сырья и материалов;
- условиями хранения сырья после антибактериальной обработки, если возникает необходимость в таком хранении до его переработки на сыр.

Максимальный уровень биомассы посторонней микрофлоры в продукте при прочих равных условиях зависит от продолжительности периода, в течение которого происходит увеличение содержания ее жизнеспособных клеток. Лимитирующим размножение фактором чаще всего является исчерпание доступных для микроорганизмов источников энергии. Значительная часть посторонней микрофлоры прекращает размножаться в сырах до того, как будут исчерпаны источники энергии, в связи с изменением условий для ее существования (кислотности, $A_в$, температуры) [397, 1308]. Изменения в сыре, делающие невозможным дальнейшее размножение посторонней микрофлоры, являются преимущественно результатом развития молочнокислых бактерий. Чем быстрее размножается микрофлора закваски, тем раньше перестают размножаться посторонние микроорганизмы в сыре. К сожалению, существует верхний предел скорости размножения молочнокислых бактерий во время выработки сыра, обусловленный влиянием скорости молочнокислого брожения на физико-химические показатели сырной массы (разд. 2.5.4).

Зависимость удельной скорости размножения X_i микроорганизма в сыре от различных факторов можно выразить следующим уравнением:

$$\mu_i = f_1(C) \cdot f_2(T) \cdot f_3(P) \cdot f_4(M) \cdot f_5(Б) \cdot f_6(Ф) \cdot f_7(Г), \qquad (6.3)$$

где μ_i – удельная скорость размножения X_i микроорганизма; С – состав и свойства молока; Т – технологические факторы; Р – ингибирование продуктами

собственного метаболизма; М – действие других микроорганизмов; Б – действие бактериофагов; Ф – физиологическое состояние микроорганизма; Г – генетические факторы.

Состав и свойства молока могут оказать как прямое, так и косвенное влияние на удельную скорость роста микроорганизма. В молоко могут специально вносить соединения, оказывающие специфическое ингибиторное действие на те или иные посторонние бактерии и не влияющие в применяемых дозах на рост полезной микрофлоры (селитра, лизоцим).

Примером косвенного влияния может служить загрязнение молока антибиотиками, применяемыми для лечения маститов. Эти антибиотики действуют на микрофлору заквасок, а на грамотрицательную микрофлору, например, кишечную палочку, они в тех дозах, которые есть в сборном молоке, не действуют или оказывают слабое действие. Загрязнение молока такими антибиотиками снимает или ослабляет ингибиторное действие микрофлоры закваски на постороннюю микрофлору, что увеличивает удельную скорость и продолжительность возможного роста возбудителей порчи сыров.

Примеси маститного молока в сборном могут изменить скорости развития микроорганизмов в молоке [517]. Некоторые бактерии (стафилококки, кишечная палочка) лучше растут в сыворотке из маститного молока, рост других бактерий в ней ингибируется.

Технологические факторы. Технологии сыров разрабатывались с таким расчетом, чтобы обеспечить благоприятные условия для действия молокосвертывающих энзимов, удаления определенного для каждой группы сыров количества сыворотки из сгустка, развития необходимой микрофлоры и в максимально возможной степени ограничить развитие посторонней микрофлоры. Изменение любого технологического параметра без соответствующей корректировки других параметров отражается на развитии посторонней микрофлоры. Так, увеличение степени посолки сыров в зерне снижает активность микрофлоры заквасок и создает благоприятные условия для роста солеустойчивой микрофлоры, в частности стафилококков. На развитие посторонней микрофлоры в сырах особенно большое влияние оказывают такие технологические факторы, как температура II нагревания, скорость и уровень нарастания кислотности во время выработки сыра, количество воды и молочного сахара, остающиеся в сыре, тип, степень и условия посолки, продолжительность и условия созревания сыров [396, 397, 1308, 1295].

Ингибирование продуктами собственного метаболизма. Этот тип ингибирования широко распространен в природе, но в сыроделии снижение качества сыров в результате развития микрофлоры происходит при более низких концентрациях продуктов метаболизма микрофлоры, чем те, при которых начинается ингибирование собственного ее развития. Правда, лактококки закваски не могут сбродить все углеводы

в сырах с низкой температурой II нагревания, по крайней мере, при отсутствии разбавления сыворотки водой, из-за ингибирующего действия образуемых ими кислот, но они являются не посторонней, а необходимой микрофлорой. Тем не менее неспособность микрофлоры закваски сбродить все углеводы в сыре создает условия для развития в сырах «диких» штаммов мезофильных лактобацилл, которые могут ухудшить органолептические показатели сыров.

Взаимодействие между различными группами микроорганизмов играет огромную роль в формировании микрофлоры сыра. В гл. 3 показано, что именно в результате жизнедеятельности микрофлоры закваски ограничивается продолжительность размножения посторонней микрофлоры в сырах. Представители посторонней микрофлоры могут, в свою очередь, оказывать и ингибирующее, и стимулирующее действие друг на друга. Среди «диких» штаммов лактобацилл встречаются штаммы, оказывающие специфическое антибиотическое действие на маслянокислые бактерии. Бактерии группы кишечных палочек стимулируют рост маслянокислых бактерий. Во ВНИИМС создано новое направление борьбы с вредной микрофлорой в сыроделии путем включения в закваски видов и штаммов лактобактерий, обладающих специфическим антагонистическим действием на возбудителей порчи сыров [397, 1308, 1295].

В США на базе антибиотических веществ, образуемых молочнокислыми бактериями, организовано производство препарата Микрогард, действующего на патогенные бактерии и плесени [920, 1154]. В промышленных образцах сыра Коттедж, содержащих Микрогард, на поверхности развивались плесневые грибы в 1% образцов, в контроле – в 33%.

Действие бактериофагов. Загрязнение заквасок и молока для выработки сыра бактериофагами, способными атаковать микрофлору заквасок, резко снижает неспецифическое и специфическое антагонистическое действие лактобактерий на постороннюю микрофлору. Существуют бактериофаги и у возбудителей порчи сыров. Имеются предложения об использовании бактериофагов стафилококков для предотвращения стафилококковых интоксикаций сырами, которые пока не реализованы в промышленном сыроделии. Большая вариабельность скорости размножения посторонней микрофлоры в сырах, вырабатываемых по одинаковой технологии и с одинаковыми закваскими, может быть обусловлена действием бактериофагов.

Физиологическое состояние микроорганизмов. Наиболее благоприятные условия для роста большинства возбудителей порчи сыров создаются во время выработки сыра, которая по продолжительности составляет небольшую часть от общего времени производства сыров с созреванием. Поэтому уровень развития микроорганизмов в сыре при их попадании в смесь для его выработки в ослабленном состоянии (например, клеток, выдержавших пастеризацию молока) будет несравненно ниже, чем при попадании в смесь в активной форме (например, клеток, раз-

множившихся во время предыдущей выработки и не уничтоженных в промежутке между выработками).

Генетические факторы. Удельные скорости размножения видов микроорганизмов в молоке и сыре сильно различаются, что оказывает влияние на степень их опасности для сыров. Так, маслянокислые бактерии являются наиболее опасными возбудителями порчи твердых сыров, особенно с высокими температурами II нагревания, и не представляют никакой опасности для кисломолочных сыров, а также сыров, созревающих при участии плесневых грибов, что обусловлено их генетическими свойствами.

6.2. Энтеробактерии

6.2.1. Общие свойства

Энтеробактерии – семейство бактерий, основным местом обитания которых служит кишечник. Они обитают в кишечнике человека, животных, птиц, рыб, насекомых; их находят в почве, воде, сточных водах, на фруктах, овощах, деревьях; они могут выступать в роли сапрофитов, симбиотов, эпифитов, паразитов [123, 508, 1450].

Семейство *Enterobactericeae* в 9-ом издании определителя Берджи помещено в группу 5 «Факультативно анаэробные грамотрицательные палочки», подгруппу 1 [1552]. Это грамотрицательные неспоровые палочки размером 0,3–1,8 мкм, в большинстве подвижные. Большая часть факультативных анаэробов так же, как и молочнокислые бактерии, способны жить как в присутствии, так и в отсутствие кислорода. Однако, в отличие от молочнокислых бактерий, энтеробактерии в аэробных условиях используют кислород для получения энергии посредством окисления энергетического субстрата, т. е. путем дыхания, в анаэробных условиях они получают энергию путем брожения – частичного окисления субстрата (углевода) без участия кислорода. Молочнокислые бактерии получают энергию путем брожения в присутствии и в отсутствие кислорода.

Большинство видов хорошо растет при 37° С, некоторые лучше растут при (25–30)° С. Образуют каталазу (исключением является *Sh. dysenteriae*). Восстанавливают нитраты до нитритов за исключением представителей родов *Erwinia* и *Yersinia*. Устойчивы к желчи, что дает им возможность существовать в кишечнике.

Энтеробактерии подразделяют на 30 родов [1552], биохимические характеристики некоторых из них приведены в табл. 6.1 [800, 1450, 1552]. Тип: *Escherichia*. Роды разделены на трибы, различающиеся продуктами брожения. В табл. 6.2 приведены продукты брожения представителей I и II групп [1762]. По сравнению с *Ent. aerogenes*, представителем рода энтеробактер, часто встречающемся в сырах, *E. coli* образует из глюкозы в 2,76 раза больше кислот, в 3,25 раз меньше спиртов и в 2,3 раза

меньше газов. Из-за высокой газообразующей активности *Ent. aerogenes* и получила свое название. Различия в продуктах брожения обусловливают их неодинаковое влияние на качества сыров, хотя этот вопрос требует изучения. По-видимому, метаболиты *E. coli* приносят меньше вреда органолептическим показателям сыров, чем образуемые бактериями II группы, которые, вступая в реакции с летучими жирными кислотами, образуют соединения, обусловливающие формирование порочных привкусов и запахов в сырах.

6.1. Биохимические свойства важнейших для сыроделия родов энтеробактерий

Показатели	I					II				III	IV
	1[1)]	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Главные продукты брожения	Смесь кислот					2,3-Бутандиол					Смесь кислот
Каталаза	+	+	+	+	R[2)]	+	+	+	+	+	+
Подвижность	+	+	+	+	–	–	+	+	+	+	–
Газ из глюкозы при 37° С	+	+	+	+	–	р[3)]	+	+	р	R	–
Кислоты из											
арабинозы	+	–	+	+	R	+	+	+	–	–	+
лактозы	+/м[4)]	–	+/м	R	R	R	+	–	–	–	–
сахарозы	р	–	р	–	R	+	+	–/м	+	R	R
Использование цитратов	–	–	+	+	–	р	+	+	+		–
Проба с метилрот	+	+	+	+	+	R	–	–	–	+	+
Образование ацетоина	–	–	–	–	–	R	+	+	R	р	–
Образование индола	+	+	R	–	R	р	–	–	–	R	р
Образование H_2S	–	+	R	+	–	–	–	–	–	R	R
Гидролиз желатина	–	–	–	R	–	(р)	(+)[5)]	–	+	R	–

[1)]1 – *Escherichia*; 2 – *Edwardsiella*; 3 – *Citrobacter*; 4 – *Salmonella*; 5 – *Shigella*; 6 – *Klebsiella*; 7 – *Enterobacter*; 8 – *Hafnia*; 9 – *Serratia*; 10 – *Proteus*; 11 – *Yersinia*;
[2)]R – различная реакция у видов;
[3)]р – различная реакция у штаммов;
[4)]м – не всегда положительна;
[5)]( ) – медленная реакция.

Микроорганизмы второй группы дают положительную реакцию на ацетоин, промежуточный продукт в образовании 2,3-бутандиола (проба Фогеса-Проскауэра). Кислотный и щелочной характер продуктов брожения представителей энтеробактерий лежит в основе пробы с индикатором pH метиловым красным, который при pH меньше 4,5 изменяет цвет с желтого на красный.

6.2. *Продукты сбраживания глюкозы бактериями Escherichia coli и Enterobacter aerogenes* [1762]

Продукты брожения	Число молей / 100 молей глюкозы	
	E. coli	*E. aerogenes*
2,3-Бутандиол	0	66,5
Этанол	42	70,0
Кислоты:		
янтарная	29	0
молочная	84	3
уксусная	44	0,5
муравьиная	2	18
Водород	43	36
CO_2	44	172

6.2.2. Кишечная палочка и бактерии группы кишечных палочек

Наиболее распространенные виды энтеробактерий входят в род *Escherichia*, включающий пять видов; типовым является *Escherichia coli* [1552]. *E. coli* («coli» – от латинского «colon» – ободочная кишка толстого кишечника – основное место обитания этого вида) заселяет кишечник большинства теплокровных животных в течение нескольких часов после рождения и остается в нем всю жизнь, хотя количество ее составляет только около 1% общего содержания кишечной микрофлоры [949]. Общепринятое ее название «кишечная палочка». Вместе с фекалиями в больших количествах попадает во внешнюю среду. Ранее считалось, что в воде и почве *E. coli* не размножаются, и поэтому их обнаружение в воде рассматривали как показатель фекального загрязнения воды. Сейчас установлено, что *E. coli* может размножаться в воде и других объектах внешней среды за счет продуктов автолиза водорослей и других микроорганизмов, загрязнения объектов органическим материалом, удобрениями [1418].

На практике широкое распространение получило понятие «*бактерии группы кишечных палочек*» (БГКП), или «*колиформы*». В стандарте ММФ 73:1974 «Подсчет колиформ в молочных продуктах» колиформам дано следующее определение: «Колиформы – это палочковидные, грамотрицательные, аэробные и факультативно анаэробные, неспоровые бактерии, которые при использовании указанных в стандарте сред и методов сбраживают лактозу с образованием кислот и газов». В качестве питательных сред в стандарте ММФ используют бульон и агар с бриллиантовым зеленым, желчью, лактозой и пептоном. Инкубацию проводят при 29–31° С. Наличие газа определяют в пробирках с поплавками. В качестве подтверждающих тестов используют окраску по Граму и морфологию клеток.

По ГОСТ 9225-84 колиформы определяют на среде Кесслер с лактозой, в которой рост грамположительной микрофлоры подавляется желчью и красителем кристаллическим фиолетовым; инкубацию посевов проводят при 37° С в течение 18–24 ч.

Таким образом, колиформы – это энтеробактерии, образующие газ из лактозы. В число колиформ входят *эшерихия*, *цитробактер*, *энтеробактер* и *клебсиелла* [508, 1418]. Выделение этой группы удобно для практики из-за простоты и быстроты их количественного учета. Дифференциация на виды БГКП для сыроделия не имеет особого значения, поскольку роль их в сырах примерно одинакова.

Если *E. coli* всегда присутствуют в фекалиях, то представителей других родов БГКП может в них не быть, или они присутствуют в небольших количествах. Зато в других объектах внешней среды они встречаются чаще и в большем количестве, чем *E. coli*. Так, представители рода *Klebsiella* встречаются в респираторном и кишечном тракте в небольших количествах, при этом их можно найти в почве, пыли, воздухе, воде, в технических стоках предприятий пищевой, текстильной, целлюлозной промышленности, на деревьях, фруктах, цветах и т. д. [949]. В технических стоках их количество достигает 10^7 мл$^{-1}$. Широко распространены в природе, в частности в воде, почве, молоке и молочных продуктах, представители родов цитро- и энтеробактер. Цитробактер может размножаться в отсутствие аминокислот и витаминов, что способствует широкому распространению его в природе.

Для выявления среди БГКП собственно *E. coli* используют комплекс из пяти проб, выражаемый формулой *ТИМАЦ*, где *Т* – способность сбраживать глюкозу с образование газа при 43–46° С; *И* – образование индола; *М* – интенсивность образования кислот при сбраживании глюкозы, фиксируемая по изменению окраски метилрот; *А* – образование ацетилметилкарбинола (реакция Фогеса-Проскауэра); *Ц* – способность усваивать цитраты [1448]. Следует отметить большую изменчивость микроорганизмов, включаемых в вид *E. coli*: наряду с типичными в этот вид входят много метаболически малоактивных штаммов, отличающихся неспособностью образовывать газ из глюкозы, индол, сбраживать лактозу, потерявших подвижность [1552]. Эти штаммы очень трудно отличить от шигелл. Часть штаммов по биохимическим признакам трудно отличить от энтеробактера. Точную идентификацию нетипичных штаммов можно провести только в специализированных лабораториях.

Отношение к внешним факторам

Отношение к температуре. Оптимальная температура для кишечной палочки около 37° С, для других представителей БГКП она ближе к 30° С, что свидетельствует о лучшей их приспособленности к условиям окружающей среды. Часть БГКП образует газ из лактозы при 30° С, но не при 37° С [1061]. Максимальные температуры для кишечной палочки

около 46° С, для других представителей БГКП они ниже 46° С. 15 штаммов *E. coli* росли при 4° С, т. е. являлись психротрофами [891, 1170]. От 17 до 21% общего содержания психротрофов в сырах составляют БГКП. В питательном бульоне все колиформы, выделенные из сырого молока, росли при (8–10)° С, при 6° С количество бактерий родов *Citrobacter* и *Enterobacter* уменьшилось в первые 3 и 6 ч соответственно, затем начало повышаться [1170]. Снижение их количества, очевидно, связано с гибелью основной части клеток, не обладающих психротрофностью, последующее увеличение биомассы обусловлено размножением психротрофных вариантов. Психротрофные варианты встречаются у всех представителей БГКП [273, 516, 752, 969, 1687].

Считается, что пастеризация молока в сыроделии достаточна для уничтожения всех представителей БГКП. В молоке сразу после выхода из секции пастеризации не допускается наличие БГКП менее чем в 10 мл. Однако показано, что часть клеток у 32,2% штаммов *E. coli*, выделенных из сырого и пастеризованного молока, не погибает при 63° С в течение 30 мин, если нагрев проводили в обезжиренном молоке, инокулированном 100 тыс./мл клеток и разлитом в пробирки по 5 мл [468]. Если инокулированное молоко заливали по 2 мл в ампулы, которые запаивали, то количество выдержавших пастеризацию штаммов снизилось до 3,5%. Очевидно, тепловая обработка в условиях доступа воздуха повышает термоустойчивость БГКП. Пастеризация молока в пластинчатых пастеризаторах происходит при ограниченном доступе воздуха. Существуют штаммы БГКП с повышенной термостойкостью. 70% клеток *E. coli* и 64% *Ent. aerogenes* выдержали нагревание при 60° С в течение 10 мин, хотя все эти клетки получили при этом сублетальные повреждения [861]. Устойчивость к пастеризации у голодающих клеток выше, чем у активно растущих. В сыре Камамбер термостойкая микрофлора состояла из *Enterobacter* (54%), *Klebsiella* (26%) и *E. coli* (12%) [939]. Соотношение между родами БГКП в процессе созревания Камамбера менялось.

В предыдущих опытах выживаемость клеток БГКП определяли посевом культур после тепловой обработки в оптимальную среду с последующей выдержкой посевов в течение 10 сут при 37° С. В промышленности эффективность пастеризации молока по содержанию БГКП проверяют высевом молока после пастеризации на элективные среды с выдержкой посевов в течение 24–48 ч. Последний метод определения эффективности пастеризации дает заниженные результаты, поскольку часть клеток бактерий во время пастеризации получает сублетальные повреждения, в результате которых они не дают роста на элективных средах, в которых содержатся ингибирующие рост микроорганизмов компоненты [468]. В оптимальных средах и условиях инкубации клетки, получившие сублетальные повреждения во время пастеризации, восстанавливают активность и способность расти в элективных средах. Отношение к пастеризации у других представителей БГКП такое же, как у *E. coli*.

Отношение к кислороду. *E. coli* в аэробных условиях получают энергию за счет окисления органических веществ с помощью O_2, в ана-

эробных условиях – только за счет сбраживания углеводов [800]. Таким образом, спектр доступных для кишечной палочки и других представителей БГКП источников энергии в анаэробных условиях, в частности в сырах, ограничивается только углеводами. В анаэробных условиях снижается активность и устойчивость БГКП к факторам внешней среды. Удаление перед свертыванием из молока растворенного кислорода путем пропускания через него CO_2 на 55 сут задержало рост БГКП в сыре Камамбер при 6° С [1100].

Устойчивость к pH. Кишечная палочка устойчива к кислотности среды [719, 815]. В физиологическом растворе с pH 3,8 она выживает в течение 12 ч [815]. Однако в сквашенном *Lbc. casei* молоке, инокулированном 10^5–10^6 КОЕ/мл *E. coli*, полная гибель ее наступила через 4 ч. Это обусловлено тем, что недиссоциированные органические кислоты (молочная, уксусная) проникают внутрь клетки и вызывают необратимые изменения протоплазмы, а также широко распространенной способностью лактобацилл образовывать специфические антибактериальные вещества [815]. Молочная кислота ингибирует развитие кишечной палочки при pH 5,1 в такой же степени, как соляная кислота при pH 4,5 [24]. Кроме этого, устойчивость к кислоте факультативно анаэробных бактерий в анаэробных условиях, которые создаются в сырах, снижается [1008].

Активность воды. Минимальная активность воды для роста наиболее солетолерантных штаммов *E. coli* при прочих оптимальных условиях равна 0,932 [1421]. В сырах они перестают размножаться при $A_в$ меньше 0,95, что ниже, чем для лактококков. Следовательно, посолкой сыра в зерне нельзя задержать рост БГКП, не подавив рост лактококков.

Устойчивость к дезинфицирующим и ингибирующим веществам. Обычно грамотрицательные бактерии более устойчивы к дезинфицирующим веществам, чем грамположительные, но это зависит от вида дезинфицирующего средства и условий выращивания микроорганизмов [914]. Особенно устойчивы к дезинфицирующим средствам кишечные палочки при росте в составе сообществ микроорганизмов на поверхностях трубопроводов и оборудования (в составе биопленок) [152, 191]. Энтеробактерии чувствительны к CO_2, хотя и в меньшей степени, чем псевдомонады [914]. Добавление в молоко для выработки сыра 0,02% KNO_3 в 52% случаев улучшало качество сыров голландской группы, не изменяя содержание кишечных палочек и маслянокислых бактерий, но ингибируя газообразование [842]. Наличие в молоке 0,01% селитры предотвращает раннее вспучивание сыров. Однако этот вывод авторов нельзя признать однозначным, так как действие селитры на возбудителей вспучивания сыров зависит от многих факторов, в том числе от исходного содержания в молоке газообразующих бактерий [334].

Взаимоотношения с молочнокислыми бактериями. Лактобактерии ингибируют рост кишечных палочек в молоке и сырах за счет быстрого сбраживания лактозы и повышения кислотности среды (неспецифический антагонизм) и образования специфических антибиотических

веществ. Зоны задержки роста *E. coli* в забуференной плотной питательной среде диаметром 6–15 мм образовывали 5,9% штаммов молочного лактококка, 22,1% – сливочного лактококка, 31,9% – диацетильного лактококка, 58,4% – сливочного лейконостока, 38,3% – *Lbc. plantarum* и 33,3% – *Lbc. casei* [1583]. Лактококки ингибируют рост кишечных палочек в начале совместного культивирования, лактобациллы – спустя 12–24 ч после начала культивирования.

6 из 36 штаммов лейконостоков, выделенных из молока и молочных продуктов, обладали сильным антагонистическим действием на *E. coli* [674]. Антагонизм обусловлен образованием термостойких бактериоцинов.

Степень ингибирования зависит от вида и штамма молочнокислых бактерий: обычно штаммы молочного лактококка оказывали более сильное ингибирующее действие, чем сливочного, многовидовая мезофильная закваска – более сильное, чем моновидовая [1412].

Сбраживание лактозы. Отдельные штаммы *E. coli* (около 10%), цитробактер и до 60% штаммов клебсиелл не образуют газ из глюкозы и лактозы, поэтому применяемая методика учета БГКП выявляет не все БГКП [446, 1078].

Патогенность

Кишечная палочка относится к условно-патогенным микроорганизмам [1276, 1723]. К условно-патогенным относят представителей микрофлоры человека и животных, способных вызвать заболевания хозяина при ослаблении его защитных систем, например, при дисбактериозах, ослаблении общего или местного иммунитета. Некоторые авторы считают, что для того чтобы вызвать заболевание, нужны определенные условия для любых патогенных микроорганизмов [1723]. Они считают, что патогенные микроорганизмы – это микроорганизмы, для которых болезнь хозяина является необходимым условием существования, условно-патогенные – это бактерии, которые размножаются и в здоровых хозяевах. Болезнь хозяина – это следствие развития патогенного микроорганизма или результат нарушений нормальных взаимоотношений хозяина и условно-патогенного микроорганизма.

Существуют энтеропатогенные кишечные палочки (ЭКП), вызывающие острые кишечные заболевания (ОКЗ) при поступлении в организм с пищей: от тяжелых холероподобных поносов до легких отравлений. Часть из них (так называемые энтеротоксигенные кишечные палочки ЭТКП) – образует термоустойчивый и термолабильный энтеротоксины. *Минимальная инфицирующая доза ЭКП* – минимальное количество живых клеток возбудителя, которое должно поступить в организм для того, чтобы вызвать заболевание, – для взрослых равна 10^7–10^9, для детей, среди которых эти заболевания происходят чаще всего контактно-бытовым путем, она намного меньше [1245, 1725]. Основным источником ЭКП являются люди с ОКЗ. ЭТКП обнаруживаются у 40–60%

взрослых людей с ОКЗ, обследованных с отрицательным результатом на сальмонеллы и шигеллы [1725]. Среди здоровых людей от 0,9 до 8% являются носителями ЭКП [1245, 1725]. Интересно, что один и тот же серотип ЭКП, выделенный из кишечника больных и здоровых людей, может иметь разную вирулентность: штаммы от здоровых людей могут не вызывать заболеваний. В фекалиях больных эшерихиозами количество возбудителей обычно равно (10^6–10^8) $г^{-1}$ [1238, 1270].

Энтеротоксины способны образовывать представители трех других родов БГКП [1238, 1239]. Из 119 энтеротоксигенных культур БГКП 40,3% отнесены к *Kleb. pneumoniae*, 12,6% – к *Kleb. oxytoca*, 27,4% – к *Ent. cloacae* и 19,7% – к *Ent. aerogenes*. Наиболее часто возбудителями диареи у детей на первом году жизни являются протей, клебсиелла и энтеробактер [1270]. В молоке БГКП энтеротоксины не образуют [472]. Исследование 240 штаммов *E. coli*, выделенных из пищевых продуктов животного происхождения, показали, что 8% из них обладают энтеротоксигенными свойствами [116]. Другие авторы не нашли энтеротоксигенных штаммов среди 136 штаммов *E. coli*, выделенных из поступивших в продажу сыров [364]. Установлено причастие БГКП к нескольким вспышкам токсикоинфекций, в том числе в результате потребления пастеризованного молока с просроченным сроком реализации [1270, 1418].

С 1982 г. начали рассматривать как безусловно патогенный микроорганизм *E. coli 0157:H7*, образующий токсин, подобный токсину, продуцируемому шигеллами – возбудителями дизентерии [475]. Этот штамм был причиной нескольких вспышек пищевых инфекций, в том числе через пастеризованное и сырое молоко, йогурт. Самая большая охватила более 500 человек, из которых четверо умерли. Источник возбудителя – больной скот, в частности телята, 1,5–4,9% которых являются носителями возбудителя инфекции. Штамм отличается высокой вирулентностью – минимальная инфицирующая доза менее 10 клеток. Погибает при пастеризации, но очень устойчив к кислотам: при pH 4,5 выживает до 2 мес, при pH 3,9 – семь недель. Плохо растет при 44–45° С, поэтому не выявляется обычно используемыми для учета *E. coli* методами. В отличие от других серотипов *E. coli*, не ферментирует сорбит. При 35° С растет в среде с 2% соли, но не выше, не размножается при pH ниже 4,0 и 4° С [275].

Размножение и роль в сырах

Молоко в вымени здоровых коров не содержит БГКП, но сразу после выхода из вымени оно обсеменяется ими из окружающей среды на молочных фермах (с кожных покровов животных, воздуха, подстилки, оборудования, молокопроводов, инвентаря, обслуживающего персонала) [1270]. ЭКП могут вызывать маститы коров, и в этом случае они будут в молоке уже при выходе из вымени. В сыром молоке БГКП всегда присутствуют, степень обсеменения ими молока зависит от гигиены его получения, продолжительности и температуры хранения, условий транспортировки. В некоторых странах в молоке для выработки сыра

допускается не более 1000 клеток/мл БГКП [475, 507, 715], в Нидерландах в сыром молоке для производства сыра допускается не более 30, в пастеризованном молоке при поступлении в сырную ванну – меньше 1 клетки/мл БГКП [784]. По Перфильеву (1998), в сыром молоке содержится в среднем $5{,}6 \cdot 10^3$ (от 0,6 до $250 \cdot 10^3$ мл$^{-1}$) БГКП.

Из сырого молока БГКП попадают в сыр непосредственно в виде термостойких клеток, выдерживающих пастеризацию, или через окружающую среду, загрязняемую БГКП сырого молока. Чем сильнее сырое молоко заражено БГКП, тем больше их клеток при прочих одинаковых условиях попадет в молоко в сырной ванне. Однако сырое молоко нельзя считать наиболее опасным источником загрязнения сыров БГКП по следующим причинам:

- основная масса БГКП сырого молока погибает при пастеризации;
- выдержавшие пастеризацию клетки определенное время находятся в неактивной форме, а к моменту восстановления активности клеток условия для их роста в сыре резко ухудшаются за счет снижения температуры и сбраживания лактозы микрофлорой закваски;
- заболевания животных и человека обычно вызывают разные штаммы и серотипы БГКП [364, 446].

Главными и наиболее опасными источниками БГКП являются внутризаводские: плохо вымытое и продезинфицированное оборудование и инвентарь, обслуживающий персонал (особенно лица с острыми кишечными заболеваниями), закваски при нарушении санитарных правил их приготовления. Особенно частой причиной является отсутствие санитарной обработки оборудования между выработками [1669]. В опытных выработках сыров из одного и того же молока в сырах первой выработки, проведенной после санитарной обработки ванны, было почти в 10 раз ниже содержание БГКП в период максимума, чем их содержание в сырах второй выработки, проведенной в ванне без ее санитарной обработки после первой выработки. Это обусловлено тем, что часть БГКП, размножившихся во время первой выработки, адгезировалась на поверхности оборудования и попала в молоко для второй выработки в фазе максимальной активности.

Нерегулярная или недостаточная мойка и дезинфекция молокопроводов может привести к появлению на поверхности труб сообществ БГКП, вырабатывающих полисахариды, защищающие микроорганизмы от действия дезинфицирующих средств [191]. Обитающие на заводах БГКП могут быть более резистентными к дезинфицирующим веществам, чем обитающие в природе [153].

Содержание БГКП в пастеризованном молоке после его транспортировки по молокопроводу, подвергнутому недостаточной санитарной обработке, к моменту поступления в сырную ванну возросло более чем в 350 раз по сравнению с их содержанием в том же молоке, перекачанном по удовлетворительно обработанному молокопроводу [1683]. При этом увеличение в основном произошло не за счет *E. coli*, что согласует-

ся с большей адаптацией остальных представителей БГКП к условиям окружающей среды. В Голландском сыре, выработанном из обоих вариантов молока, количество БГКП после прессования увеличилось по сравнению с их содержанием в молоке на начало выработки примерно в 1000 раз. Таким образом, несмотря на неодинаковый родовой состав, БГКП вплоть до окончания прессования совершили одно и то же количество генераций, что, наверно, вызвано нивелировкой активности обеих популяций пастеризацией молока.

В сырах предыдущего опыта, выработанных из молока, перекачанного по плохо продезинфицированному молокопроводу в недостаточно обработанную сырную ванну, БГКП после прессования совершили еще одну генерацию, затем количество их жизнеспособных клеток начало снижаться. В сырах II варианта отмирание клеток БГКП началось сразу после прессования. Если скорость размножения БГКП до наступления максимума при одинаковых составе и свойствах молока, технологии в основном являются функцией внутренних свойств популяции, то продолжительность их размножения в сырах из обсемененного БГКП через молокопроводы и оборудование молока главным образом зависит от скорости молочнокислого брожения. Следовательно, в этих сырах активность молочнокислого брожения была ниже, чем в первом варианте сыров, что можно объяснить загрязнением молока бактериофагом во время контакта с плохо продезинфицированным оборудованием и поверхностями молокопроводов. В период максимума содержание БГКП в сырах превышало их исходное содержание в молоке в начале выработки в 900 (молоко не загрязнено БГКП через молокопроводы и сырную ванну) и 1700 (загрязненное молоко) раз. Возможны и другие причины, так как при экспериментальном обсеменении молока высокими дозами чистой культуры *E. coli* она также размножалась после окончания прессования, а при небольшой дозе довольно быстро начинала вымирать (рис. 6.1).

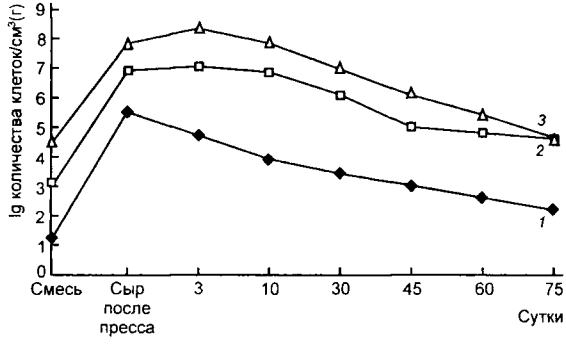


Рис. 6.1. *Рост E. coli ВКМВ-125 в Голландском брусковом сыре (степень инокуляции молока: 1 – 10–100 клеток/мл; 2 – 101–1000 клеток/мл; 3 – 10001–100000 клеток/мл)* [921]

Динамика развития кишечной палочки во время выработки и созревания Голландского брускового сыра в зависимости от степени первоначального обсеменения молока приведена на рис. 6.1 [921].

В другом опыте пастеризованное молоко перед выработкой сыра обсеменяли разными количествами *E. coli* и *Ent. aerogenes* [1669] – развитие тест-культур в сырах показано в табл. 6.3. Оба вида энергично размножались во время выработки, а при высокой степени обсеменения смеси БГКП – вплоть до 3-суточного возраста. В период максимума содержание БГКП увеличилось по сравнению с исходным в смеси в 1000–4500 раз, в сырах одной группы – в 180 раз, т. е. в большинстве случаев они дали 7–8 генераций, в сырах одной группы – около 5 генераций. После достижения максимума БГКП начали довольно быстро вымирать: в сырах 75-суточного возраста содержание БГКП уменьшилось по сравнению с максимальным: в варианте с обсеменением *E. coli* – в 160–4100 раз, с обсеменением *Ent. aerogenes* – в 50–640000 раз. В Костромском сыре из молока, не обсемененного БГКП, в возрасте от 1,5 до 2 мес содержание кишечных палочек снизилось в среднем в 10 раз и составило от меньше 1 (22,8%) до 1000 (31,8%) клеток кишечных палочек в 1 г [1687]. Скорости размножения и вымирания культур варьировали в широких пределах, что свидетельствует о действии на развитие БГКП какого-то не выявленного, но достаточно мощного фактора. Таким фактором могло быть наличие фагов кишечных палочек или вариабельность антагонистических свойств микрофлоры заквасок (выработки проводили на протяжении года с разными партиями заквасок). В сырах с высоким содержанием БГКП в период максимума скорость их гибели была намного выше.

6.3. Развитие E. coli и Ent. aerogenes во время выработки и созревания Голландского сыра [1669]

Группа сыров	Количество жизнеспособных клеток, 10^3 КОЕ/г (мл)							
	смесь	Сыры в возрасте, сут						
		0	3	10–15	30	45	60	75
Escherichia coli								
I	0,05	**230**	40	5	–	–	–	<0,3
II	2,5	5070	**11300**	4800	1100	60	–	30
III	43,0	53200	**123000**	51000	7000	1000	300	30
Enterobacter aerogenes								
I	<0,1	13	**18**	10				0,12
II	2,4	1400	**3300**	2600	630	180		70,0
III	300	**32000**	84000	53000	–	–		0,5

Эти данные показывают, что для правильной оценки развития БГКП нужно определять их количество в сырах после прессования или

3-суточного возраста, а не в зрелом виде. Это заключение справедливо, если нужно установить влияние БГКП на органолептические показатели сыра, а при оценке влияния на показатели безопасности, определяемые содержанием жизнеспособных клеток, наоборот, анализ следует проводить непосредственно перед реализацией продукта.

В сырах вида Голландский брусковый, выработанных в весенний, летний и осенний периоды (исследованы сыры 10 выработок в каждый сезон), среднее содержание БГКП в период максимума составило 69, 4600 и 34 тыс. КОЕ/г соответственно [1669]. Более высокое содержание их в летний период, очевидно, связано с более интенсивным развитием в окружающей среде и более массивным загрязнением молока после пастеризации.

Важнейшим фактором, контролирующим развитие БГКП в сырах, является скорость молочнокислого процесса. Результаты опытов по изучению влияния скорости нарастания кислотности на развитие БГКП в Голландском брусковом сыре показано в табл. 6.4 [1680]. Скорость молочнокислого процесса изменяли внесением пенициллина в молоко для выработки сыра: в молоко для выработки сыров I группы пенициллин не вносили (контроль), в молоко для сыров II группы внесли 0,1, для III группы – 0,3 ед/мл пенициллина. Из результатов опыта видно, что с добавлением в молоко пенициллина скорость нарастания кислотности в сырах понижалась, продолжительность размножения и содержание БГКП в период максимума увеличивались. В контрольных сырах содержание БГКП в период максимума превысило исходное содержание их в смеси в 228 раз, в сырах второй группы – в 2285 раз и в сырах третьей группы – в 38000 раз. В сырах 75-суточного возраста разница в содержании БГКП почти исчезла.

6.4. Влияние pH Голландского сыра на развитие БГКП

Группа	pH			Содержание БГКП (тыс./г) в сырах и смеси				
	п/п	3 сут	10 сут	смесь	п/пресса	3 сут	10 сут	75 сут
I	5,36			0,35	**80**	5	3	1,2
II	5,85	5,60	5,43	0,27	320	**620**	240	5,0
III	6,29			0,35	3200	3200	**13300**	1,3

Влияние специфической антагонистической активности микрофлоры закваски на размножение *E. coli* в Костромском сыре показано на рис. 6.2 [1726]. В опытных сырах количество БГКП в период максимума превысило их начальное содержание в смеси в 6 раз, в контрольных сырах – в 300 раз. Сравнительно небольшое увеличение количества БГКП в сырах в этом опыте обусловлено высокой кислотообразующей активностью заквасок в опыте и контроле. Однако и в этом случае, при столь высокой степени обсеменения смеси БГКП, их биомасса в контрольных сырах превысила критический уровень.

Критическая биомасса БГКП в сырах с низкими температурами II нагревания, по достижении которой они начинают оказывать отрицательное влияние на органолептические показатели продукта, равна 10^5 КОЕ/г (табл. 6.5) [921, 1669]. Оно выражается в появлении большого количества мелких, рваных (неправильной формы) глазков, нечистого, гнилостного и других порочных привкусов, ухудшении консистенции; при наличии в сыре в период максимума более 10^8 КОЕ/г этих бактерий происходит раннее вспучивание сыра («ранним» его называют потому, что оно происходит в начале созревания; вспучивание на более поздних этапах вызывают другие микроорганизмы). Перфильев (1998) считает, что отрицательное влияние БГКП на органолептические показатели сыра начинает проявляться при наличии их в сыре в количестве $(2{,}5–6{,}0)\cdot10^4$ КОЕ/г.

Раннее вспучивание сыра Гауда происходит при наличии в нем в период максимума $2{,}5\cdot10^7$ КОЕ/г *Ent. aerogenes*: такого уровня развития *Ent. aerogenes* в сыре при нормальной скорости молочнокислого процесса может достичь при исходном содержании в смеси не менее $1{,}5\cdot10^5$ КОЕ/мл [79]. В сыре Чеддер хорошего качества содержание *E. coli* может достигать $57\cdot10^3$ КОЕ/г, сыры с содержанием 10^6 и более клеток /г этого вида были плохого качества, наличие их в количестве 10^7 КОЕ/г вызывает раннее вспучивание [1626].

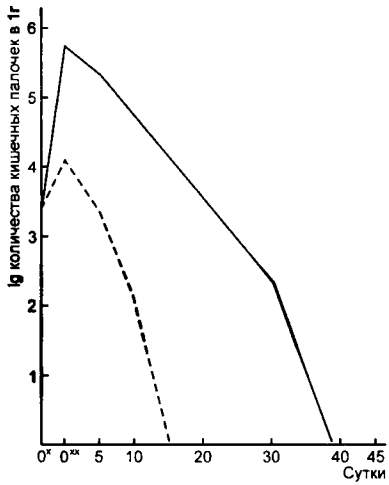


Рис. 6.2. *Изменение количества БГКП в Костромском сыре, выработанном из молока, инокулированного $2\cdot10^3$ КОЕ/мл E. coli. (—— – сыры, выработанные на обычной лактококковой закваске; - - - – сыры, выработанные на закваске, в состав которой включены, наряду с лактококками, штаммы L. plantarum, обладающие специфическим антагонизмом по отношению к БГКП; 0^x – смесь; 0^{xx} – сыр после прессования)*

Нормальный pH сыров с низкими температурами II нагревания после прессования равен 5,5–5,6. Если максимальное увеличение содержания БГКП во время производства сыров этого класса при нормальной скорости кислотообразования принять за 250, то ухудшение органолептических показателей сыра может произойти при исходном содержании в смеси 400 КОЕ/мл этих бактерий, что может быть при абсолютно не-

удовлетворительных санитарных условиях производства или отсутствии пастеризации молока. Если же скорость кислотообразования понижена, в частности, при pH сыра после прессования 5,7 и выше, то порча сыра может произойти даже при наличии в смеси 2–40 КОЕ/мл БГКП.

ЭКП могут вызвать кишечные расстройства при попадании в организм 10^7–10^9 живых клеток [1718]. Если принять дозу одновременного приема сыра равной 100 г, то в сыре в момент потребления должно содержаться не менее 10^5 КОЕ/г ЭКП для того, чтобы вызвать заболевание потребителя. Это может произойти только при воздействии комплекса факторов: низкого уровня гигиены и скорости кислотообразования, грубейших нарушениях технологии, например, режима пастеризации молока, низких температур и недостаточной продолжительности созревания, ведущих к консервации биомассы БГКП. Случаев отравлений твердыми сырами, обусловленных ЭКП, в литературе не описано.

6.5. Влияние колиформ на качество Голландского брускового сыра [921]

Содержание БГКП в сырах после прессования, КОЕ/г	Оценка в баллах				
	вкус, запах	консист.	рисунок	цвет	общая
10^3–10^5	39,0	23,6	8,8	4,9	91,3
10^6	38,6	23,0	8,4	4,9	89,9
10^7	38,1	23,0	7,5	4,9	88,6
10^8	37,0	22,1	7,0	4,4	85,4

В твердых сырах с высокой температурой II нагревания, в частности в Советском сыре, нет проблемы с БГКП, поскольку они погибают во время II нагревания [39, 1094, 1315].

В кисломолочных сырах без созревания, с одной стороны, скорость размножения БГКП должна быть ниже, чем в твердых сырах, что обусловлено более жесткой пастеризацией молока, применяемой в производстве многих видов этих сыров, более быстрым и глубоким нарастанием кислотности сырной массы. В результате этого, в кисломолочных сырах, включая творог, БГКП труднее размножиться до критического для изменения органолептитческих показателей сыра уровня биомассы [1707]. С другой стороны, в сырах без созревания не происходит вымирания этих микроорганизмов, и потребление их происходит в период максимального содержания в них живых клеток БГКП, что резко повышает опасность токсикоинфекций, вызываемых наличием в сырах энтеротоксигенных кишечных палочек. Токсикоинфекции сырами без созревания, содержащими большое количество ЭКП, имели место за рубежом [816]. Для их возникновения необходимы три условия: наличие носителей ЭКП среди людей, контактирующих с сыром или закваскаами; нарушение санитарных правил выработки сыров; ослабление активности закваски, например, в результате действия бактериофага [1328].

Чаще всего вызывают токсикоинфекции, обусловливаемые кишечными палочками, сыры Камамбер и Брик [64].

Степень размножения БГКП во время производства сыров можно понизить, включая в состав закваски штаммы молочнокислых бактерий, обладающие специфическим антагонистическим действием на эти микроорганизмы (рис. 6.3) [278, 397, 1308, 1295]. В сыре Чеддер хорошего качества кишечная палочка сохраняется от 3 до 6 мес, плохого качества – 6–10 мес [278].

E. coli и БГКП как санитарно-показательные микроорганизмы

Микроорганизмы, вызывающие заболевания людей через пищу, обычно встречаются в продуктах в небольших количествах, и их выявление и количественный учет требует сложных и длительных методов. В связи с этим принято санитарную безопасность продуктов оценивать по содержанию так называемых санитарно-показательных микроорганизмов, живущих в одной экологической нише с возбудителями пищевых заболеваний, присутствие которых в пищевом продукте свидетельствует о возможном наличии в нем патогенных бактерий [1448]. Такие микроорганизмы иногда называют *индексными* [1018]. Большинство возбудителей пищевых заболеваний активно размножается в кишечнике больных людей и животных, постоянным обитателем которого являются *E. coli* и БГКП. Поэтому наличие в продукте кишечной палочки и колиформ может свидетельствовать о загрязнении продукта содержимым кишечника, а следовательно, о возможном присутствии в нем патогенных микроорганизмов. Однако для сыроделия такой вывод неправомочен, поскольку *E. coli* и БГКП активно размножаются в различных объектах на молочном заводе (на поверхностях оборудования, молокопроводов, инвентаря, на полу и, что особенно важно, в самом продукте). Эти виды являются постоянным компонентом микрофлоры окружающей среды на молочных предприятиях [191, 1038], и наличие их не означает загрязнения продукта фекалиями и возможного загрязнения возбудителями пищевых заболеваний. Поэтому в сыроделии *E. coli* и БГКП не могут быть индексными микроорганизмами [455]. Тем не менее они имеют важное значение как индикатор санитарных условий выработки сыра. Количество этих микроорганизмов в сыре зависит от их начального содержания в смеси для выработки сыра, что при выработке сыров из пастеризованного молока определяется соблюдением режимов пастеризации, правил мойки и дезинфекции оборудования и других санитарных правил. Во время выработки сыра скорость размножения кишечной палочки в огромной степени зависит от активности молочнокислого брожения, а она, в свою очередь, определяется качеством молока, соблюдением технологии выработки сыра, степени защищенности закваски от действия бактериофага и т. д. *Все факторы, способствующие первоначальному обсеменению смеси кишечными палочками и их размножению во время выработки сыра, будут аналогично действовать на возбудителей пищевых заболеваний и технически вредные микроорганизмы, если они есть*

во внешней среде. Поэтому повышение содержания кишечных палочек в сыре свидетельствует о возможном наличии в них большого количества посторонней микрофлоры, среди которой могут быть, но не обязательно, патогенные микроорганизмы. Такие микроорганизмы называют *индикаторными* [1018].

E. coli всегда присутствует в кишечнике в достаточно больших количествах. В то же время другие представители БГКП содержатся в кишечнике в больших количествах только у лиц с острыми кишечными расстройствами [1361].

Колиформы могут способствовать развитию других вредных для сыра микроорганизмов, в частности, путем трансмиссии плазмидных генов сбраживания лактозы сальмонеллам, что позволяет сальмонеллам более энергично размножаться во время выработки сыра [502]. Кишечные палочки стимулируют развитие маслянокислых бактерий в сырах. Небольшие количества БГКП в сыре восстанавливают нитраты в нитриты, что ингибирует рост маслянокислых бактерий; при высоком их содержании они быстро восстанавливают нитраты и нитриты в соединения, не оказывающие влияния на рост маслянокислых бактерий, тем самым ликвидируется защитное действие селитры в отношении маслянокислого брожения [334].

И наконец, присутствие больших количеств кишечных палочек в сыре свидетельствует об их размножении в сырах, что после достижения ими критической биомассы приводит к появлению целого спектра пороков сыров. Таким образом, количество БГКП является важнейшим индикатором нормального хода микробиологических процессов в сырах.

Незначительное содержание кишечных палочек в зрелых сырах свидетельствует об отсутствии опасности токсикоинфекций при потреблении этого сыра, но не отсутствии их влияния на органолептические показатели сыров, которое обусловливается содержанием живых клеток БГКП в сырах 1–3-суточного возраста. Количество же живых клеток во время созревания снижается в сырах с различной скоростью.

Нет смысла выделять из БГКП фекальные коли (по формуле ТИМАЦ), поскольку все представители БГКП наносят одинаковый вред сыру, многие из фекальных коли не укладываются в эту формулу, а в процессе созревания сыров соотношение между представителями группы все время меняется [334].

Сейчас содержание БГКП в сырах обычно нормируется: в сырах без созревания, мягких сырах типа Бри, Мюнстер ни в одном из пяти проверяемых образцов из каждой партии продукта количество БГКП не должно быть выше 1000 $г^{-1}$ и только в двух из 5 оно может быть выше 100 $г^{-1}$ [474]. Сходные нормативы для отечественных твердых сыров и творога [1394]. В Австралии твердые сыры не должны содержать *E. coli* в 0,01 г [319]. В Нидерландах содержание БГКП в сырах в возрасте от 5 до 24 ч не должно превышать 10^4 $г^{-1}$, в двухнедельных – 10^3 [784], в Канаде для зрелого сыра из пастеризованного молока содержание БГКП не

должно быть выше $1{,}5 \cdot 10^3$ $г^{-1}$ [486]. С развитием техники и технологии сыроделия эти показатели непрерывно ужесточаются.

6.2.3. Шигеллы

Шигеллы (*Shigella*) – возбудители дизентерии – являются самыми близкими родственниками кишечных палочек [909, 1552]. Основные биохимические характеристики шигелл приведены в табл. 6.1. Выделяют четыре вида шигелл: *S. dysenteriae* (10 серологических вариантов), *S. flexneri* (13 сероваров), *S. boydii* (15 сероваров) и *S. sonnei* (серологически однороден) [1276]. Если биохимические отличия *S. sonnei* от других видов шигелл достаточно выражены, то разделить другие виды шигелл между собой биохимическими методами невозможно.

Шигеллы – неподвижные палочки с закругленными концами, факультативные анаэробы, обладают дыхательным и бродильным типами метаболизма, не используют цитраты, только некоторые серовары шигеллы Флекснера и Бойди образуют газ из глюкозы; лактозу без образования газа медленно сбраживают (не ранее чем через 24 ч после начала инкубации при оптимальной температуре) только отдельные штаммы шигеллы Зонне и по одному серовару шигелл Флекснера и Бойди. Положительную реакцию на сбраживание сахарозы после нескольких дней инкубации дают только некоторые штаммы шигеллы Зонне, шигеллы Зонне и Флекснера всегда дают отрицательную реакцию на образование индола [909]. В отличие от других видов, шигелла Зонне не образует кислоту из раффинозы, но образует из *L*-рамнозы [1552]. Проба с метиловым красным и реакция Фогеса-Проскауэра положительны.

Оптимальная температура для роста всех шигелл 37° С, шигелла Зонне растет при 45,5° С, минимальная температура для этого вида 10° С, оптимальный pH 7,2 [1589]. Психротрофных вариантов среди шигелл не обнаружено [1688].

Место обитания шигелл – кишечник человека. Кроме человека встречается только у обезьян. В отличие от кишечных палочек не являются постоянными обитателями кишечника: они присутствуют в кишечнике больных дизентерией, носителей и реконвалесцентов, последние выделяют шигеллы в течение от нескольких недель до нескольких месяцев. В фекалиях больных дизентерией шигелл содержится до 1 млн. клеток/г. Высеваемость шигелл из фекалий здоровых работников пищевых производств составляет 0,2–1,2% [1589]. Особенно опасны для производства лица с хроническими или рецидивирующими формами дизентерии. По частоте обнаружения у детей с острыми кишечными заболеваниями шигеллы занимают второе место после БГКП [1270].

В отличие от БГКП, шигеллы являются не условно, а безусловно патогенными микроорганизмами. Минимальные инфицирующие дозы (МИД) для шигеллы дизентерии I (шигелла Григорьева-Шига) 1–10 клеток, шигеллы Флекснера – 100 клеток, шигеллы Зонне – 10^7 клеток [909, 1589]. Правда, есть мнение, что МИД для всех шигелл равна 10^3 клеток

[1724]. Благодаря низким МИД первые два вида могут вызывать заболевания контактно-бытовым путем без размножения во внешней среде; шигелла Зонне вызывает заболевания по типу токсикоинфекций, при массивном обсеменении воды фекалиями (водный путь) или при размножении в пищевом продукте (пищевой путь). При МИД 10^7 и одновременном потреблении 100 г сыра шигелла Зонне может вызвать заболевание при наличии в сыре в момент потребления не менее 10^5 $г^{-1}$ живых клеток. Токсинов в продуктах шигеллы не образуют; они их образуют только в кишечнике.

Следует, однако, помнить, что МИД в значительной степени зависит от индивидуальной устойчивости макроорганизма: она минимальна для детей сразу после рождения, когда у них еще не сформировалась нормальная кишечная микрофлора и собственные защитные системы.

По тяжести вызываемого заболевания шигеллы располагаются в следующем порядке: *Sh. dysenteriae* > *Sh. flexneri* > *Sh. sonnei,* по частоте – в обратном порядке [909, 1374]. В странах с хорошим состоянием бытовой гигиены токсикоинфекции, вызываемые шигеллой Зонне, составляют 60–95% случаев заболевания дизентерией. Обусловлено это более высокой устойчивостью данного вида к внешним факторам. Так, в воде открытых водоемов шигелла Зонне выживает до 48 сут, шигеллы Флекснера – 6–16 сут [1589].

Сырое молоко не является существенным источником обсеменения сыродельных заводов шигеллами, поскольку скот не болеет дизентерией, а сапрофитная микрофлора сырого молока ингибирует размножение шигелл. В стерилизованном молоке количество шигеллы Зонне (посевная доза 10^3/г) за 3 сут при 22–24° С возросло в десятки тыс. раз, в молоке I класса по редуктазной пробе – в сотни раз, III и IV классов – в десятки раз [1688].

Считается, что пастеризация молока в сыроделии достаточна для уничтожения шигелл, но Тарадий показал, что пастеризация молока, инокулированного 10^3–10^7 клеток/мл шигеллы Зонне, при 74–76° С в течение 45–60 с уничтожает не все клетки шигелл [1688]. Однако такой уровень обсеменения сырого молока шигеллами, какой применил автор, на практике не встречается. В случае повышенной эпидемиологической опасности молоко рекомендуется пастеризовать при 76° С в течение 30 с [1448, 1222].

Основной источник обсеменения сыров шигеллами – загрязнение ими молока после пастеризации и непосредственно продукта через больных острыми кишечными заболеваниями, реконвалесцентов или лиц с хронической дизентерией. Особенно опасно загрязнение шигеллами молока для приготовления производственной закваски из сухого бактериального концентрата (рис. 6.3) [1587]. При этом способе в пастеризованное и охлажденное до температуры заквашивания молоко вносят бактериальный концентрат в сухом виде или после его кратковременной активизации. Таким образом, микрофлоре концентрата, осо-

бенно в первом случае, требуется определенное время для перехода из состояния анабиоза в активное состояние, и посторонняя микрофлора, попавшая в молоко, будет размножаться некоторое время, как в чистой культуре, что может привести к массивному загрязнению закваски вредной микрофлорой. Максимальное содержание шигелл в закваске зависит от степени первоначального обсеменения ими молока и вида закваски. Из рис. 6.3 видно, что к 16 ч (моменту готовности закваски) количество шигеллы Зонне возросло на 3–4 порядка.

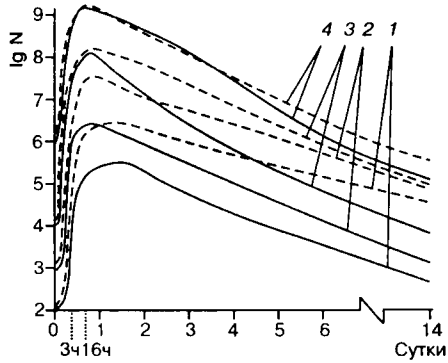


Рис. 6.3. *Размножение шигеллы Зонне при приготовлении производственной закваски из бакконцентратов.*
Дозы заражения (клеток/мл): 1 – 10^2; 2 – 10^3; 3 – 10^4; 4 – 10^6.
—— – закваска из Биоантибут (лактококки и L. plantarum);
- - - – закваска из лактококков [1587]

Безусловно, на практике вряд ли молоко в заквасочнике после пастеризации может быть заражено таким количеством шигелл, какое использовали в данном опыте, но он показывает, что нарушения санитарных правил приготовления производственных заквасок из бактериальных концентратов беспересадочным способом может привести к массивному их загрязнению посторонней микрофлорой.

Влияние молочнокислых бактерий на развитие шигелл, при одновременном засеве активными культурами молочнокислых бактерий и шигеллы Зонне в количестве 10^6 и примерно 250 КОЕ/мл соответственно, показано на рис. 6.4 [1293]. Из него видно, что в совместных культурах с лактококками, находящимися в начале культивирования в активном состоянии, количество шигелл в молоке увеличилось примерно на 2,5 порядка (в чистой культуре – примерно на 7 порядков). В совместных культурах с лейконостоками и *Lbc. plantarum* количество жизнеспособных клеток шигелл было меньше, чем в контроле, примерно на 1,5 порядка, но оно начало снижаться значительно быстрее, чем в совместных с лактококками и в чистых культурах шигелл, что важно для профилактики заболеваний дизентерией через сыры и кисломолочные

продукты. Следует подчеркнуть, что *Lbc. plantarum* и лейконостоки обладают низкой кислотообразующей активностью в молоке и действуют на постороннюю микрофлору в основном путем образования специфических антибиотических веществ. Имеется определенная корреляция между антагонистическим действием штаммов и видов молочнокислых бактерий на БГКП и шигеллы, что позволяет осуществлять подбор молочнокислых бактерий в антагонистические закваски для производства сыра по этому показателю, используя в качестве тест-культур только штаммы БГКП.

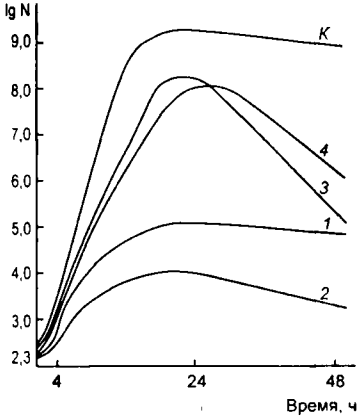


Рис. 6.4. *Динамика развития шигеллы Зонне 1368 в молоке в монокультуре (К) и совместно с Lc. lactis 1_6 (1), Lc. diacetylactis 989_8 (2), Lbc. plantarum 117/2 (3), Leuc. cremoris 318_{21} (4)* [1293]

Закономерности размножения шигелл при производстве сыров такие же, как БГКП, хотя скорость их размножения, учитывая отношение к лактозе, должна быть ниже. Ниже должно быть и содержание шигелл в сыре в период максимума, поскольку попадание шигелл в продукт обусловлено его загрязнением фекалиями (чаще всего в результате нарушений правил личной гигиены), а в фекалиях содержится больше БГКП, чем шигелл. В сырах с высокой температурой II нагревания, выработанных из сырого молока, инокулированного 10^4–10^6 КОЕ/мл шигелл, они не обнаруживались через сутки после выработки, в сырах с низкой температурой II нагревания – через 90 сут созревания [39]. В сырах в зависимости от вида, температуры хранения и созревания живые клетки шигеллы Зонне сохраняются в течение 6–92 сут [39, 64, 538, 1351]. Выживаемость шигелл в сыре повышается при снижении температуры хранения или созревания.

Шигеллы (в основном Зонне) вызвали несколько вспышек дизентерии, связанных с потреблением сыра. Чаще это мягкие и кисломолочные сыры, но зарегистрировано несколько вспышек, вызванных твердыми сырами (Российский, Пошехонский). Основной причиной этих вспышек являются низкие уровень гигиены производства сыра и скорость сбраживания лактозы микрофлорой закваски. Как правило, операторы по приготовлению закваски для выработки сыров, потребление

которых вызвало заболевание дизентерией, болели дизентерией в период выработки дефектных сыров. Сыры, вызвавшие заболевание, содержали в 100–1000 раз больше БГКП, чем допускается, и их нельзя было выпускать в реализацию.

Часто причастность сыров к вспышкам дизентерии устанавливается не выделением возбудителей из продукта, а на основе косвенных фактов. Флегонтова объясняет это наличием возбудителей в момент потребления сыра и их вымиранием к моменту проведения анализов [1718]. Такое объяснение для твердых сыров недостаточно, потому что их употребляют через 30–75 сут после выработки, и следует объяснить, почему шигеллы не погибли в сыре за это время, а после вспышки они вымерли в течение нескольких суток. Хранение сыра на путях реализации после нарушения анаэробных условий, например, в мелкофасованном виде, может привести к обсеменению его шигеллами и их размножению, поскольку условия для развития энтеробактерий в аэробных условиях резко улучшаются. Ищут же шигеллы в цельных головках подозреваемого сыра, в которых их может не быть совсем или они присутствуют в очень небольшом количестве.

6.2.4. Сальмонеллы

Сальмонеллы (*Salmonella*) – также родственные БГКП микроорганизмы. Основные их свойства представлены в табл. 6.1. Прямые палочки (0,7–1,5)×(2–5) мкм, факультативные анаэробы, обладают дыхательным и бродильным типами метаболизма [1552]. Сбраживают глюкозу с образованием газа (исключением является *S. typhi*, не образующая газ), лактозу и сахарозу чаще всего совсем не сбраживают, не образуют индол, большинство образует сероводород. Отдельные штаммы могут сбраживать лактозу и сахарозу, благодаря приобретению специфических плазмид, донорами которых могут быть *E. coli* [502]. Молоко сначала слегка подкисляют, затем сдвигают его pH в щелочную сторону, свертывание молока при этом не происходит. Проба с метиловым красным положительна, Фогеса-Проскауэра – отрицательная. Растут на среде Симмонса с цитратом, нитрат восстанавливают, H_2S не образуют. Как правило, сбраживают арабинозу, ксилозу, мальтозу, маннитол, рамнозу, сорбитол и трегалозу.

Основой видовой диагностики сальмонелл является антигенная структура: в настоящее время насчитывают более 2000 серологических вариантов сальмонелл [1276, 1552]. Подвижны, за исключением нескольких сероваров, при pH меньше 6,0 подвижность теряют [691].

Сальмонеллы могут размножаться при температурах от 5,3 до 45° С, pH выше 4,0 [691, 819, 1626]. На рост сальмонелл влияет не только pH, но и тип кислоты: в присутствии лимонной, молочной и уксусной кислот рост прекращается при pH 4,9–5,35, в присутствии соляной – при pH 4,0 [691, 1626]. При близких к минимальной температурах растут только при pH 7,0–8,0.

Минимальная $A_в$ для роста в молоке находится в пределах 0,93–0,945 [819, 1626]. 3% NaCl при прочих оптимальных условиях стимулируют рост сальмонелл [538], они могут расти в питательных средах, содержащих до 9% NaCl [819]. Интервалы внешних факторов для роста сальмонелл сужаются в анаэробных условиях [153, 1626].

Сальмонеллы не выдерживают пастеризацию молока. $Д_{71,7°C}$ для самых термоустойчивых сальмонелл равно 1,2 с [691], $Д_{68,3°C}$ – 0,28–0,52 мин [1626]. Однако на международном семинаре по безопасности пищи высказывались мнения о возможности выживания клеток сальмонелл при пастеризации молока [216].

Тысячекратное снижение содержания происходит для *S. typhi* (6° С, pH 7,2) в присутствии 0,025–0,050 мг/л свободного хлора, *S. typhimurium* – 0,10–0,15 мг/л [1626].

Местом обитания сальмонелл является кишечник человека, животных, птиц, рептилий. В отличие от кишечной палочки сальмонеллы не являются составной частью нормальной микрофлоры кишечника и их присутствие в кишечнике свидетельствует об отклонении состава микрофлоры от нормы.

Все сальмонеллы потенциально патогенны [1402]. Большинство из них, в частности *Salmonella typhimurium*, одинаково патогенны для человека и животных, другие (*S. typhi*, *S. paratyphi*) – только для человека, третьи адаптировались к какому-либо одному виду животного. Так, *S. dublin*, в основном, вызывает заболевания крупного рогатого скота, но может быть причиной токсикоинфекций человека [975].

S. typhi, *S. paratyphi* отличаются высокой вирулентностью и вызывают заболевания контактно-бытовым путем, но большинство сальмонелл распространяются водным и пищевым путем и вызывают заболевания по типу токсикоинфекций. Минимальная инфицирующая доза при оральном введении, вызвавшая заболевание не менее 50% добровольцев, равна для *S. typhi* 10^5, для *S. typhimurium* – 10^9 [729], *S. meleagridus* или *S. anatum* – 10^6 клеток [704]. Она значительно ниже для малолетних, лиц с иммунодефицитом, заболеваниями крови, нарушениями состава нормальной кишечной микрофлоры, например, в результате антибиотикотерапии [1402]. МИД при поступлении с водой значительно ниже, чем с пищей, что, по-видимому, связано с повышением pH содержимого кишечника при потреблении воды. Экзотоксинов не образуют [1448]. При определенных условиях сальмонеллезы, по мнению некоторых авторов, может вызвать попадание в организм 100 клеток сальмонелл [86, 215, 1626]. D'Aoust, расследуя крупнейшую в Канаде вспышку сальмонеллеза, установил, что она была вызвана получением пациентами вместе с сыром Чеддер нескольких десятков клеток *S. typhimurium* [215]. С его выводами можно не согласиться, так как анализ сыров на содержание сальмонелл он проводил спустя определенное время (порядка 8 недель) после заболевания, т. е. когда большая часть жизнеспособных клеток сальмонелл в сыре могла погибнуть. Были реализованы дефектные сыры

24 выработок, что повлекло заболевание более 1500 людей. При таких количествах дефектного сыра число заболевших должно быть много больше. Возможно, пострадали лишь те лица, которые потребляли сыр, какое-то время находившийся в контакте с воздухом, что могло привести к размножению сальмонелл. По-видимому, результаты опытов на добровольцах дают более верное представление об инфицирующих дозах сальмонелл. Высокое содержание жира в пище защищает сальмонеллы в пищеварительном тракте [216].

Количество пищевых заболеваний, вызываемых сальмонеллами, растет [216]. Больные сальмонеллезами люди и животные – основные источники заражения пищевых продуктов и воды сальмонеллами. В 1 г фекалий больных людей и животных содержание сальмонелл может составлять от десятков миллионов до миллиардов клеток [1402]. 3–9% выздоровевших продолжают выделять сальмонеллы в среду в течение нескольких недель, месяцев и даже лет [819, 1402]. Сальмонеллы сохраняют жизнеспособность в воде открытых водоемов и в почве от нескольких недель до нескольких месяцев, в сухом кале коров – до 4 лет, мышей – до 1 года. Вызывают маститы коров. В США клетки сальмонелл обнаруживаются в 4% образцов сырого молока [750]. Могут попадать в сыр с сычужным порошком.

На размножение сальмонелл в молоке и сыре мощное влияние оказывают молочнокислые бактерии благодаря не только неспецифическому, но и специфическому антагонизму. В табл. 6.6 показано распространение неспецифического антагонизма среди лактобактерий, определяемого методом перекрестных штрихов на забуференной плотной питательной среде [1293]. Наибольшее количество штаммов, обладающих сильной специфической антагонистической активностью по отношению к сальмонеллам, обнаружено у видов с низкой скоростью кислотообразования в молоке: *Leuc. cremoris* и *Lbc. plantarum*, что еще раз указывает на целесообразность включения этих видов в состав мезофильных заквасок. Наибольшую устойчивость к специфическому антагонизму молочнокислых бактерий из числа испытанных показала *S. typhimurium*, наиболее часто вызывающая сальмонеллезы молочным путем.

При росте в молоке без добавления буфера наибольшим антагонизмом по отношению к сальмонеллам, как и следовало ожидать, обладали виды и штаммы, быстро размножающиеся и образующие кислоту, в частности лактококки. Для оценки степени антагонизма молочнокислых бактерий на рост посторонней микрофлоры был использован индекс антагонистической активности (A), равный:

$$A = 100 - \frac{100 \cdot K}{K_0}, \qquad (6.4)$$

где K и K_0 – количество жизнеспособных клеток тест-культуры при развитии в смешанной и чистой культурах [1293].

Индекс антагонистической активности для всех испытанных штаммов лактококков против трех видов сальмонелл через 24 ч культивирования был выше 99, за исключением одного случая с *S. typhimurium*, где он был равен 68. Для лейконостоков и *Lbc. plantarum* в 24-часовых культурах *A* равнялся 27,5–99,0. Таким образом, главным фактором ингибирования развития сальмонелл молочнокислыми бактериями в молоке без контроля pH является неспецифический антагонизм. Сыры в отношении контроля pH являются промежуточным продуктом: pH в них не может быть ниже определенной величины (для большинства твердых сыров 5,2–5,0).

6.6. Специфическая антибиотическая активность молочнокислых бактерий к сальмонеллам [1293]

Лактобактерии	Количество штаммов	Тест-культуры	% штаммов с антагонизмом [1]:		
			сильным	средним	низким
Lc. lactis	69	*S. typhimurium*	0	10	90,0
		S. newport	0	14,5	85,5
		S. dublin	0	41,6	58,4
Lc. diacetylactis	59	*S. typhimurium*	0	22,1	77,9
		S. newport	1,7	35,5	62,8
		S. dublin	1,7	67,9	30,4
Leuc. lactis	14	*S. typhimurium*	7,1	14,3	78,6
		S. newport	7,1	0,0	92,9
		S. dublin	7,1	21,4	71,4
Leuc. cremoris	32	*S. typhimurium*	37,5	37,5	25,0
		S. newport	28,1	40,6	31,3
		S. dublin	31,3	53,1	15,6
Lbc. plantarum	32	*S. typhimurium*	6,2	25,0	72,6
		S. newport	9,4	25,0	65,6
		S. dublin	10,0	40,0	50,0

[1]Ширина зоны задержки роста: при сильном антагонизме – более 10 мм; при среднем – 5–10 мм и при низком – от 0 до 4 мм.

Американская фирма «Applied Microbiology» на основе бактериоцинов, образуемых лактобактериями, организовала производство препарата, ингибирующего развитие сальмонелл в пищевых продуктах, действующего также против листерий [95]. 1 мкг/мл этого препарата полностью уничтожает $(1–10)\cdot10^6$ $мл^{-1}$ сальмонелл за 15 мин.

Во время выработки сыра сальмонеллы размножаются, пока pH сыра не снизится до 5,2–5,3, затем начинают вымирать. Чем больше период от начала выработки сыра до окончания сбраживания лактозы и снижения pH до 5,2–5,3, тем выше шансы сальмонелл размножиться в сыре до опасного уровня. Во время выработки Чеддера с малоактивной закваской (pH сыра после прессования 5,65–5,80) содержание сальмо-

нелл в суточном сыре достигло 10^5 КОЕ/г, увеличившись в 1000 раз по сравнению с исходным содержанием, тогда как при нормальной скорости кислотообразования (pH сыра после прессования ~ 5,1) оно увеличилось примерно в 160 раз. [64]. Park et al. вырабатывали Чеддер из молока, специально обсемененного *S. typhimurium*, с малоактивной закваской [819]. Сальмонеллы размножались в течение 2 недель созревания при 7–13° С; в одном сыре с содержанием влаги 43% и pH 5,7 после прессования – в течение месяца при 7° С.

Во время производства мягких сыров сальмонеллы погибают при нормальной скорости кислотообразования (pH сгустка 4,55), при пониженной скорости кислотообразования (pH сгустка 4,95) они дают 1–2 генерации во время выработки и продолжают, в отличие от кишечных палочек, размножаться во время созревания [64].

Во время созревания сыров количество жизнеспособных клеток сальмонелл снижается пропорционально температуре созревания. В сыре Чеддер сальмонеллы выживали 12 недель при 12,8° С, 16 недель при 7,2° С (Goepfert, 1968) и не менее 10 мес при 4,4–5,6° С (Cambell & Gibbara, 1944) [64]. В сыре Самсю за 60 сут созревания при 16–20° С количество сальмонелл уменьшилось в 10 000 раз, при 10–12° С скорость их гибели снизилась (Bruhn et al., 1960) [64]. Часть клеток может сохранять в сыре жизнеспособность, в зависимости от вида и pH, свыше 300 сут [538, 691]. Повышенный pH сыра снижает скорость вымирания сальмонелл. В твороге сальмонеллы выживают в среднем 16,5 сут при 22° С и 64,7 сут при 4° С (Siegmund, 1960) [64].

Наиболее часто токсикоинфекции через сыры вызывают *S. typhimurium* и *S. enteriditis*, наиболее устойчивые к действию внешних факторов [60]. *S. typhi* и *S. paratyphi*, несмотря на низкую МИД, пищевые интоксикации вызывают редко, что объясняется их быстрой гибелью во внешней среде. Острые гастриты вызывает *S. dublin* через сырое молоко.

В 1980–1985 гг. зарегистрировано более 2700 заболеваний сальмонеллезами: через сыр Чеддер в Канаде (5 вспышек из 16), более 100 в Италии через сыр Моцарелла, 35 в Финляндии через сыр домашнего производства, 215 в Швейцарии через мягкий сыр [1747]. Также были зарегистрированы вспышки сальмонеллезов, связанные с потреблением сыров Колби, Камамбер, Коттедж [64]. В Шотландии до введения обязательной пастеризации молока ежегодно регистрировали до 10 вспышек сальмонеллезов, вызванных потреблением сырого молока [906]. При этом следует учитывать, что сальмонеллезы, протекающие в вялой форме, часто выпадают из поля зрения органов здравоохранения и нигде не регистрируются. В бывшем СССР была зарегистрирована одна вспышка сальмонеллеза через Российский сыр с полной посолкой в зерне: сыр этот содержал на несколько порядков больше БГКП, чем допускается действующей сейчас документацией (в момент его реализации нормативов по содержанию в твердых сырах БГКП не было). Сравнительно редкие случаи заболеваний сальмонеллезами через твердые сы-

ры обусловлены быстрой гибелью сальмонелл во время созревания. Считается, что созревание сыра при температурах выше 10° С в течение 60 сут достаточно для снижения в нем количества сальмонелл до не опасного для здоровья людей уровня, однако это не всегда так [64]. Причинами вспышки сальмонеллеза через Российский сыр были низкая активность закваски и созревание при низких температурах (5–6° С), при которых гибель сальмонелл идет очень медленно.

К сожалению, вспышки сальмонеллезов, связанные с потреблением некачественных сыров, чаще мягких и сыров без созревания, за рубежом иногда имеют место [64]. Причинами этого являются нарушения санитарных правил и режима пастеризации молока, потеря активности закваски, чаще всего в результате действия бактериофагов.

6.2.5. *Yersinia enterocolitica*

К энтеробактериям, способным вызвать токсикоинфекции через молоко и молочные продукты, относится *Yersinia enterocolitica* (синоним *Pasteurella X*), близко родственная сальмонеллам, шигеллам и кишечным палочкам [1352]. Иерсинии – прямые палочки, иногда приобретающие сферическую форму, диаметром 0,5–0,8 и длиной 1–3 мкм, факультативные анаэробы, не растущие в строго анаэробных условиях, обладают дыхательным и бродильным типами метаболизма, не образуют газ из глюкозы, не сбраживают лактозу (табл. 6.1). Неподвижные при 37° С, при температуре ниже 30° С подвижные [1552]. Часть штаммов *Y. enterocolitica* приобрела способность сбраживать лактозу [1145]. Сбраживают углеводы с образованием небольшого количества газа или без образования газа. Обитают в кишечнике человека и животных, особенно грызунов.

Оптимальная температура для роста 28–30° С, максимальная – 40° С, растет при температуре до 1° С, т. е. является психротрофом, pH минимальный 4,6, пастеризацию молока не выдерживают [65, 1033, 1552, 1626]. При 4° С в пастеризованном молоке удельная скорость роста равна 0,65 логарифмического цикла в сутки [423]. В сыром молоке при низких температурах другие психротрофные микроорганизмы оказывают бактериостатическое действие на иерсинии, поэтому последние более быстро размножаются в пастеризованном и стерилизованном молоке. Лактозоферментирующие штаммы *Y. enterocolitica* снижают pH молока до 4,68, лактозонегативные дают такой же рост, но повышают pH молока до 7,98. Оптимальный pH для роста 7,2–7,4 [1276]. При совместном с молочнокислыми бактериями росте выживаемость *Y. enterocolitica* зависит от вида молочнокислых бактерий, скорости кислотообразования, температуры, серологического варианта и начального содержания. Бактерицидное действие лактобактерий начинается при снижении pH до 4,30–4,55 (до увеличения концентрации кислоты до 0,8–1,0%). Скорость гибели возрастает при увеличении температуры с 4 до 22° С. Довольно устойчива к соли: в сывороточном рассоле с 4% соли *Y. en-*

terocolitica сохранила устойчивость в течение более 60 сут, с 20–22% соли 16–36 ч [1661]. Пастеризацию молока, принятую в сыроделии, не выдерживает, однако термостойкие варианты этого вида были обнаружены в Австралии (Hughes, 1979) [327, 1352].

Некоторые серовары патогенны для человека и животных [65]. Вызывает энтероколиты, чаще всего у детей, сопровождающиеся поносами (в 98% случаев), повышением температуры (88% случаев), рвотой, болями в животе. Болезнь обычно продолжается в течение 3 сут [1724]. Иерсиниозы в соответствующих группах заболеваний составляют от 2,7 до 22,7% [1416]. Передаются в основном фекально-оральным путем, но иногда и контактно-бытовым. Минимальная инфицирующая доза *Y. enterocolitica*, определенная на добровольцах, составляет $3{,}5 \cdot 10^9$ клеток [749]. Образует термостойкий энтеротоксин, сходный, но не идентичный с термостойким токсином энтеротоксигенных штаммов *E. coli*. Токсин сохраняет активность после выдержки при 121° С в течение 20 мин [534]. Из 36 культур *Y. enterocolitica*, выделенных из сырого молока, 16 образовывали энтеротоксин в триптиказеин-соевом бульоне при 25° С и только 3 – в стерилизованном молоке. При 4° С из 7 энтеротоксигенных штаммов, включая три штамма, образующие энтеротоксин в молоке при 25° С, только один образовывал токсин в бульоне и ни один не образовывал в молоке [327]. В молоке испытанные штаммы к концу культивирования смещали pH до 4,68–7,98, в бульоне – 8,33–8,56. По-видимому, различия в pH бульонных и молочных культур *Y. enterocolitica* и влияют на образование ими энтеротоксина.

Источниками иерсиний являются человек, животные, особенно свиньи, вода, молочные продукты. *Y. enterocolitica* была выделена из 30% исследованных фекалий коров; 26% образцов фекалий персонала молочных ферм; 2,05% фекалий лиц, страдающих от энтероколитов; 4,5% образцов речной и озерной воды; 1,5% образцов молока от маститных коров, в смывах с зева и рук работников молочных предприятий [99, 604, 849, 933, 1416]. В сыром молоке *Y. enterocolitica* обнаруживается в 0,8–81,4% образцов.

Исследования изменения содержания *Y. enterocolitica* при производстве пастеризованного молока выявили ее присутствие в 0,6% образцов свежевыдоенного молока, 7,6% образцов сборного молока из танка приемного отделения, 1,7% образцов пастеризованного молока из танка и в 3,7% образцов расфасованного молока из торговой сети [1416]. Загрязнение пастеризованного молока является следствием или нарушения режима пастеризации, или послепастеризационного загрязнения молока иерсинией.

Y. enterocolitica обнаружена в 2,0–4,5% исследованных образцов мягких и грибных сыров [538]. При выработке сыра Чеддер из сырого молока она была обнаружена в 9,2% проб сырного зерна, в одном образце 4-недельного сыра и не найдена в 8-недельных сырах [711]. В

твердых сырах, выработанных из массивно обсемененного иерсинией молока, она не обнаруживалась через сутки после выработки [39].

Доля вирулентных штаммов (серологических вариантов) *Y. enterocolitica*, выделяемых из молока и молочных продуктов, составляет от 0 до 4% [538, 691]. Зарегистрировано несколько вспышек иерсиниозов за рубежом, связанных с употреблением молока и молочных продуктов, сыры ни разу не были причиной таких вспышек [1747]. По-видимому, непричастность сыров к вспышкам иерсиниозов обусловлена неспособностью *Y. enterocolitica* размножаться в строго анаэробных условиях и гибелью их клеток во время созревания сыров. Среди немногих вспышек кишечных инфекций, обусловленных потреблением сыра, преобладают вспышки, вызываемые потреблением мелкопорционированного сыра в детских учреждениях. Мелкопорционированный сыр часто хранят перед употреблением в течение до 12 ч. Виновником заболеваний в этом случае, который часто бывает невыявленным, может быть иерсиния, особенно если учесть, что оптимальная температура для ее роста близка к комнатной. Способность иерсиний размножаться при низких температурах, представляет громадную опасность, так как низкие температуры хранения часто являются единственным барьером для размножения микрофлоры, попадающей в продукт после пастеризации. Рост их в продукте при низких температурах не сопровождается появлением видимых изменений его свойств [1469]. Способность размножаться при низких температурах может привести к увеличению количества *Y. enterocolitica* в продукте до опасного уровня во время его холодильного хранения даже при низком первоначальном обсеменении.

6.2.6. Протей

К роду *Proteus* относятся подвижные, обычно прямые палочки, размером (0,4–0,8)×(1–3) мкм. У большинства штаммов имеет место роение с периодическими циклами миграции, приводящей к образованию концентрических зон или распространению в виде однородной пленки по влажной поверхности плотной питательной среды [1552], из-за чего иногда этот род называли «протей ползучий». Подвижность, четко выраженная при 20° С, может исчезнуть при 37° С. Аэробы. Сбраживают глюкозу с образованием небольшого количества газа. За редким исключением лактозу не сбраживают. В течение 6 ч гидролизуют мочевину и образуют индол. Обладают выраженной способностью к дезаминированию широкого спектра аминокислот, что обеспечивает широкое распространение протея в природе.

Протей – условно патогенный микроорганизм, вызывающий многие заболевания человека, в т. ч. поносы. До 32% острых кишечных заболеваний детей в возрасте до 14 лет вызывает протей и 12% протей совместно со стафилококками [1588].

Растет в интервале температуры от 10 до 40° С, погибает во время пастеризации. Он был обнаружен в 24% образцов фекалий здоровых

людей, а также в фекалиях животных, гниющих органических массах, сточных водах, садовых почвах, в сыром молоке. Случаи гастроэнтеритов, вызываемые протеем через сыры, редки и в основном связаны с мягкими сырами [64]. Малая причастность сыров к вызываемым протеем заболеваниям объясняется преимущественно аэробным характером его метаболизма.

6.3. Стафилококки

6.3.1. Общая характеристика

Стафилококки – сферические бактерии, диаметром 0,5–1,5 мкм, расположены поодиночке, в парах, скоплениях, напоминающих грозди винограда, что и отражено в их названии (*staphyle* – гроздь винограда). Неподвижны. Грамположительны. Содержат каталазу. В анаэробных условиях образуют в качестве главного продукта брожения глюкозы молочную кислоту, в аэробных – уксусную кислоту с небольшим количеством CO_2. В анаэробных условиях могут получать энергию только сбраживанием углеводов.

Первичным местом обитания в природе являются кожные покровы и слизистые поверхности, особенно носовая полость, человека и теплокровных животных. В небольших количествах встречаются в кишечнике, почве, воде, на поверхностях растений и других объектах внешней среды. Широкое распространение обусловлено высокой устойчивостью стафилококков к внешним факторам и лекарственным средствам.

Стафилококки являются условно-патогенными микроорганизмами, не приносящими вреда здоровью хозяина в обычных условиях, но способными вызвать целый ряд заболеваний при ослаблении его защитных систем. Острые кишечные заболевания детей в возрасте до 14 лет в 18,2% случаев вызываются условно-патогенными микроорганизмами, в том числе в 40% случаев стафилококками и в 12% стафилококками вместе с протеем [1588]. В фекалиях детей с острыми кишечными заболеваниями количество стафилококков может достигать 10^9 $г^{-1}$ [1270]. Свыше 90% инфекционных маститов коров вызывают стрептококки и стафилококки, в том числе до 50% – стафилококки [64].

Часть штаммов стафилококков образует в пищевых продуктах *энтеротоксины*. Такие штаммы называют *энтеротоксигенными*. Энтеротоксигенные штаммы стафилококков – наиболее распространенная причина пищевых отравлений, называемых *токсикозами*. Стафилококковые токсикозы характеризуются низкой смертностью, непродолжительным, но тяжелым течением.

Типовым видом является *Staphylococcus aureus* – золотистый стафилококк. В табл. 6.7 приведены показатели, используемые для разделения стафилококков на виды в 8-ом издании определителя бактерий [1450]. В 9-ом издании род стафилококков разделен на четыре вида: *S. arlettae*; *S. aureus subsp. aureus* и *anaerobius*; *S. auricularis; S. capitis*

subsp. capitis и *urealyticus* [1552]. По новой классификации золотистый стафилококк отличается от остальных видов стафилококков образованием коагулазы, активной по отношению к плазме крови кролика, термоустойчивой нуклеазы; *S. aureus subsp. aureus* отличается от *S. aureus subsp. anaerobius* образованием золотистого пигмента, способностью расти в аэробных условиях, при 45° С, сбраживать в аэробных условиях D-маннитол, D-маннозу, D-трегалозу, α-лактозу, D-галактозу, D-рибозу, восстанавливать нитрат. По старой классификации золотистый стафилококк, представляющий наибольшую опасность для молочной промышленности, получил свое название от образуемого им пигмента золотистого цвета, однако сейчас известно, что только немногим более 70% штаммов этого вида образуют этот пигмент, остальные штаммы формируют на питательных средах колонии белого цвета [1188]. В то же время 4,4% штаммов *S. epidermidis* образуют золотистый пигмент. Из сыров часто выделяются варианты золотистого стафилококка, не образующие золотистого пигмента [1107]. По новой классификации каротиноидный пигмент, кроме *S. aureus subsp. aureus*, образуют *S. arlettae* и *S. capitis subsp. ureolyticus*, не образующие внеклеточные токсины и не причастные к пищевым отравлениям, а *S. aureus subsp. anaerobius* пигмент не образует. Следовательно, способность образовывать пигмент не является признаком энтеротоксигенности ни по старой, ни по новой классификации стафилококков.

6.7. Дифференциация стафилококков на виды [1450]

Признаки	Виды:		
	aureus	*epidermidis*	*saprophyticus*
Образование[1]:			
коагулазы	+	–	–
термоустойчивой эндонуклеазы	+	–	–
α-токсина	+	–	–
кислоты из маннита аэробно	+	.	.
–«– анаэробно	+	–	–
Потребность в биотине для роста	–	+	
Наличие в клеточной стенке:			
рибита	+	–	+
глицерина	+	–	–
Устойчивость к новобиоцину[2]	S	S	R

[1]«+» – более 90% штаммов положительны; «–» – более 90% штаммов отрицательны; «.» – часть штаммов положительна, часть отрицательна.

[2]Минимальная ингибирующая концентрация, мг/мл: S – меньше 0,6; R – больше 2.

Главными признаками золотистого стафилококка по старой классификации являются образование коагулазы – энзима, коагулирующего плазму крови, – термонуклеазы и сбраживание маннита в анаэробных

условиях. Положительной реакцией на образование коагулазы и термонуклеазы, способностью к анаэробному сбраживанию маннита обладают соответственно 93,2; 97,2 и 94,5% штаммов золотистого стафилококка и 1,6; 2,9 и 6,4% штаммов *S. epidermidis* [1188]. Таким образом, ни один из этих признаков не является видоспецифичным, однако удельный вес этих признаков для золотистого стафилококка по сравнению с другими видами достаточно высок.

Только часть штаммов стафилококков патогенна для человека и животных. До середины 60-х годов считали образование коагулазы стафилококками абсолютным показателем их патогенности и термин «коагулазоположительный» по существу был синонимом «патогенный». Сейчас установлено, что отдельные коагулазоотрицательные и термонуклеазоотрицательные штаммы стафилококков обладают патогенностью и, наоборот, отдельные коагулазоположительные штаммы не приносят вреда здоровью человека или животных. И те, и другие – исключение из правил. По новой классификации только оба подвида *S. aureus* обладают способностью образовывать коагулазу и термостойкую нуклеазу, что делает эти два свойства безусловными показателями стафилококков, способных вызвать заболевания, распространяемые пищевым путем.

Коагулазоположительные стафилококки делят на биотипы в соответствии с их основными хозяевами. На человеке чаще всего паразитирует биотип А, на коровах и овцах – биотип С. Плазму крови коровы коагулируют биотипы D и E, плазму крови человека – биотипы А и В, биотип С коагулирует оба вида плазмы. Специфичность биотипа нестрогая: обычно на хозяине, кроме основного, паразитируют несколько других биотипов.

Для внутривидовой дифференциации коагулазоположительных стафилококков применяют фаготипирование. Для этой цели скомплектованы два международных набора фагов: человеческого происхождения (Ч) и крупного рогатого скота (КРС). Стафилококки Ч по фаготипу делят на четыре литические группы: большинство «госпитальных» штаммов, вызывающих эпидемические вспышки и спорадические заболевания в стационарах, относятся к I и III литическим группам. Штаммы небольничного происхождения относятся ко II группе. Из сырого молока чаще выделяют штаммы, лизируемые фагами группы IV и КРС. Имеются многочисленные исключения из этого правила. Буткус с соавт. протипировали фагами набора КРС только 50% штаммов стафилококков, выделенных из молока маститных коров, остальные штаммы типировались или фагами набора Ч, или смесью фагов из обоих наборов [1247]. Aubeli et al. установили, что из 83 штаммов *S. aureus*, выделенных из маститного молока, 41% типировались фагами набора Ч и только 22,7% фагами набора КРС; 91,1% штаммов, типированных набором фагов Ч, принадлежала к III литической группе [37].

Сублетальная тепловая обработка может изменить фагоформулу стафилококков [1585], повышение устойчивости к антибиотикам сопро-

вождается потерей чувствительности к фагу. Гошев и А. Гудков фаготипировали 720 штаммов коагулазоположительных стафилококков, выделенных из сборного молока, персонала, оборудования молочных ферм и сырзаводов, сырного зерна, сыра Российский после прессования и в зрелом возрасте [1283]. Число нетипируемых фагами штаммов, выделенных из сыра, равнялось 85,7–91,7%, а из других объектов 27,3–91,7%. Это можно объяснить или снижением чувствительности к фагу во время выработки и созревания сыра, или более быстрым размножением фагоустойчивых штаммов стафилококков. Фаготипирование не может служить достаточно точным методом определения происхождения штаммов стафилококков, выделяемых из сыра.

6.3.2. Стафилококковые энтеротоксины

Часть штаммов стафилококков образует внеклеточные энтеротоксины. Потребление продуктов, содержащих определенные количества стафилококковых токсинов, вызывает тяжелые токсикозы независимо от присутствия в продукте в момент его потребления живых клеток стафилококков. Попадание только живых клеток в организм оральным путем заболеваний не вызывает. В этом принципиальное отличие токсикозов от токсикоинфекций, вызываемых попаданием в организм с продуктом живых клеток возбудителя.

Энтеротоксины образуют коагулазоположительные штаммы стафилококков (описано два случая токсикозов, вызванных коагулазоотрицательными штамммами стафилококков) [357]. По Кузькину, среди энтеротоксигенных штаммов стафилококков 99,1% образовывали α-токсин и 98,0% – термонуклеазу [1467], т. е. абсолютное большинство энтеротоксигенных штаммов стафилококков являются представителями вида *S. aureus*. В опытах Куваевой и Карликановой из 21 энтеротоксигенного штамма стафилококков 20 дали положительную реакцию на плазмокоагуляцию и термонуклеазу, но только 35% коагулазоположительных и термонуклеазоположительных штаммов образовывали энтеротоксины [1459].

Стафилококки образуют энтеротоксины A, B, C, D, E и F. Достаточно наличие в продукте 1 мкг стафилококкового энтеротоксина, чтобы вызвать токсикоз у потребителя [1125]. Токсикозы в сырах чаще вызывает токсин A, один или в комбинации с токсинами B и D [982, 1521].

Исследована способность образовывать энтеротоксины у 654 штаммов *S. aureus*, выделенных из пищевых продуктов, в т. ч. 125 штаммов из молока и молочных продуктов, обнаруженных у персонала предприятий пищевой промышленности, коров, на оборудовании [369]. Ни один из выделенных штаммов не был связан со вспышками стафилококковых отравлений. Из изученных штаммов образовывали токсины A – 8,1, C – 3,1 и B – 2,5%.

По фаготипу большинство энтеротоксигенных штаммов принадлежит к III и I группам, т. е. к штаммам человеческого происхождения.

Из 94 штаммов стафилококков, выделенных при пищевых отравлениях, 91 принадлежал к III, I и I/III группам, 1 – к IV группе, 1 – к смешанной группе и 1 не был типирован [357].

Одним из главных источников обсеменения молочных заводов патогенными стафилококками является сборное молоко, в которое они попадают главным образом с молоком от маститных коров. Доза энтеротоксигенных штаммов стафилококков, вызывающих маститы коров, составляет от 2 до 67,5%, обычно она ниже 10% [967, 1043]. Штаммы стафилококков, вызывающие маститы, чаще всего образуют токсины С и D [1043]. Однако имеются исключения из этого правила. Буткус с соавт. установили, что из 28 штаммов, выделенных из маститного молока, 13 образовывали токсин В, три – токсины А и В, один – токсин А [1246]. Miljkovic et al. из вымени здоровых коров выделили три штамма стафилококков, образующих токсин А, и два – токсин В [724]. Bolstridge & Roth выделили из маститного молока 7 энтеротоксигенных штаммов стафилококков (18,4% от общего количества), из которых 4 образовывали энтеротоксин А [101].

Стафилококковые энтеротоксины, в частности токсин А, термостойки [67, 1065, 1188, 1521], устойчивы к трипсину [1521], могут сохранять активность в сырах в течение нескольких лет [1063]. Энтеротоксин А разрушается при 100, 110 и 121,1° С соответственно за 105, 50 и 20 мин [1065]. Токсин В, внесенный в сырое молоко в количестве 54,04 мкг/мл, сохранил активность после нагревания молока при 90° С в течение 3 и 5 мин на 18,5 и 19,7%; последующая обработка этого молока при УВТ (121° С, 2 с) не уменьшила, а увеличила активность токсина до 35,5 и 37,1% от исходной [410]. Это можно объяснить разрушением при УВТ какого-то более термолабильного ингибитора токсина. Благодаря устойчивости к тепловой обработке и энзимам пищеварительного тракта стафилококковые энтеротоксины молока сохраняют активность при его переработке на сыр.

6.3.3. Влияние физико-химических факторов на рост и токсинообразование *S. aureus*

В табл. 6.8. показаны оптимальные значения и границы некоторых физико-химических факторов, в которых возможен рост и токсинообразование стафилококков.

Активная кислотность. Оптимальный pH для роста стафилококков лежит в пределах 6,0–7,0, для синтеза токсина А – 6,5–7,0, токсина В – примерно 8,0 в отсутствие и 7,0–7,5 в присутствии гидролизатов белка [747]. Минимальное значение pH для синтеза токсина В равно 5,1, для синтеза токсина А в аэробных условиях – 4,9, в анаэробных – 5,7 [982]. Токсин В быстро денатурируется при pH 5,3 [1104].

Органические кислоты (молочная, и особенно уксусная) оказывают более сильное ингибиторное действие на стафилококки, чем неорганические. При pH 4,5 и прочих оптимальных условиях соляная кислота не

оказала влияния на размножение *S. aureus*, молочная кислота ингибировала рост на 78%, уксусная – на 82% и муравьиная – на 88% [1521]. Чем менее благоприятны другие физико-химические условия среды для развития стафилококков, тем уже интервал pH для его роста и токсинообразования. В среде без соли стафилококки образуют токсин С в интервале pH 4,0–9,8, а при концентрации соли в водной фазе 10% – в интервале pH 5,45–7,30 (Genigeorgis et al., 1971) [1521].

6.8. Влияние условий внешней среды на рост и токсинообразование стафилококков

Факторы	Значения для роста			Значения для токсинообразования		
	опт	мин	макс	опт	мин	макс
pH	6–7	3,6	10,0	6,5–7,5	3,6	9,8
Температура, °С	37,0	7	47,8	39,4–45,0	10,0	46,0
Активность воды	0,99–9,995	0,83	0,999	0,99	0,86	0,999
NaCl, %	3,5	0	20,0			

Температура. Оптимальная температура для роста стафилококков равна 37° С. Оптимальная температура для образования токсинов несколько выше: по Titini, она лежит в интервале 40–45° С, а при температурах ниже 12° С токсины не образуются [1098], по Pereira et al., токсины А и В наиболее интенсивно образовывались при температуре 39,4° С, а при температурах ниже 20 и выше 45° С их образование прекращалось [835]. По Marland (1967), токсин В образуется при температурах от 15,2 до 43,2° С [1104]. Снижение температуры культивирования стафилококка с 40° С до 20° С уменьшило накопление биомассы за 25 ч в 4 раза, а количество образованного энтеротоксина снизило в 100 раз по сравнению его выходом при 37° С [982].

Read в молоке, инокулированном 10^6 клеток/мл энтеротоксигенных штаммов *S. aureus*, обнаружил энтеротоксины через 6 ч инкубации при 37° С, через 9 ч при 30° С, через 18 ч при 25° С, через 36 ч при 20° С, через 72 ч при 18° С; дальнейшее понижение температуры до 10° С или полностью подавило синтез токсинов, или замедлило их образование до 7 сут [868]. По Робертс, стафилококки не образуют энтеротоксины при температуре ниже 16° С [1626]. Образование стафилококковых энтеротоксинов при температурах ниже 20° С возможно после длительной инкубации и массивного первоначального обсеменения продукта стафилококками [1521].

Повышенные по сравнению с температурами для роста температуры для образования энтеротоксинов можно рассматривать как одно из доказательств того, что стафилококки не нуждаются для своего развития в смерти хозяина: наоборот, они быстрее всего размножаются при температурах, наиболее благоприятных для самого хозяина, а токсины быстрее образуют при ненормальных для хозяина температурах.

Устойчивость к тепловой обработке и дезинфицирующим веществам. Исследования 171 штамма коагулазоположительных стафилококков установили, что $Д_{72° C}$ (продолжительность выдержки при 72° С в мин, необходимой для снижения количества жизнеспособных клеток в 10 раз) для наиболее термоустойчивых штаммов равна 0,128 (7,7 с), значение Z (количество °С, на которое нужно повысить температуру обработки, для того чтобы снизить количество выживающих клеток при постоянном времени выдержки в 10 раз) для стафилококков равно 5–6° С [82, 1063, 1104], по другим данным, оно равно 9,46° С [311]. Пастеризацию молока (71,7° С, 15 с), зараженного смесью 171 штамма стафилококков, выдержало 0,38% клеток стафилококков [82]. При проверке в запаянных капиллярах без доступа воздуха стафилококки показали немного меньшую термоустойчивость: $Д_{70° C} = 0,1$ и $Д_{75° C} = 0,02$ мин [311]. Подобные же результаты получили Свешникова с соавт. [1643]. Буткус с соавт. обнаружили единичные клетки стафилококков в 1 мл всех образцов пастеризованного при 70° С в течение 20 с молока и в 2,7% молока, пастеризованного при 75° С в течение 20 с [1246]. В опытах Sylvester пастеризацию молока при 70° С в течение 30 с выдержало 0,19% клеток коагулазоположительных стафилококков [1050].

6.9. Влияние времени посева молока после тепловой обработки на выявляемость клеток стафилококков, сохранивших жизнеспособность

Режим обработки	Количество выявленных живых клеток/мл, % от засеянных							
	Количество засеваемых клеток в мл сырого молока:							
	10^2		10^3		10^4		10^6	
	А[1)]	В	А	В	А	В	А	В
72 °С, 20 с	0	0	0	3	5	25	70	720
76 °С, 20 с	0	0	0	0	3	18	14	320

[1)]А – посев проведен сразу после тепловой обработки; В – посев проведен после охлаждения молока до 37° С и выдержки его при этой температуре в течение 3 ч.

Количество выдержавших пастеризацию молока клеток стафилококков определяют посевом на питательный агар с 7,5% соли, которая требуется для подавления роста других термостойких бактерий. Однако, клетки стафилококков, получившие сублетальные повреждения во время пастеризации, тоже не образуют колонии на солевом агаре [134, 311]. В дальнейшем клетки репарируют полученные повреждения и полностью восстанавливают свою активность. Поэтому общее число выдержавших пастеризацию (получивших и не получивших сублетальные повреждения) клеток стафилококков может быть выше, чем определяется посевом молока в солевой агар сразу после тепловой обработки. О справедливости этого говорят результаты опыта, приведенные в табл. 6.9 [1298]. В посевах А выявляются только клетки, выдержавшие пасте-

ризацию молока без каких-либо повреждений, в посевах В выявляются неповрежденные клетки и часть клеток, получивших сублетальные повреждения во время пастеризации, но репарировавших их во время трехчасовой выдержки молока после пастеризации (эти клетки будут восстанавливать активность и во время выработки мелких сыров, проходящей при температурах, близких к оптимальным для развития стафилококков). Количество жизнеспособных клеток стафилококков, выявляемых методом В, было в 5–23 раза выше, чем выявляемых методом А. По другим данным, при температурах выше 60° С нет различий в степени выявления клеток стафилококков, сохранивших жизнеспособность в результате тепловой обработки, на оптимальной среде и солевом агаре [311].

Степень аэрации. Стафилококки в анаэробных условиях могут размножаться только при наличии доступных для них углеводов, тогда как в аэробных условиях они могут использовать в качестве источников энергии также белковые соединения. Рост стафилококков в аэробных условиях более быстрый и обильный, чем в анаэробных [982, 1098, 1521]. Образование токсина В было максимальным при парциальном давлении кислорода 10% [982]. При свободном доступе O_2 в среду терморезистентность стафилококков повышается [311].

В анаэробных условиях основным продуктом метаболизма стафилококков является молочная кислота, и поэтому их размножение до определенного уровня не оказывает влияния на органолептические показатели сыров. Это делает стафилококки более опасными возбудителями пищевых заболеваний, чем энтеробактерии, поскольку их наличие в сыре нельзя определить по органолептическим показателям продукта.

Устойчивость к дезинфицирующим веществам. *S. aureus* инактивируется 0,8 частями/млн. активного хлора за 30 с при 25° С и pH 7,2; 15 частями/млн. – за 15 с при pH 8,5–8,9 [1626].

Активность воды. Стафилококки из бактерий наиболее устойчивы к содержанию в среде соли: они могут расти даже в насыщенных соляных растворах. Однако резистентность к соли и особенно способность образовывать энтеротоксины в средах с повышенными концентрациями соли зависят от других условий среды. Плотность популяции стафилококков при повышении в среде концентрации соли с 0 до 10% уменьшается на 20%, синтез токсина А уменьшается пропорционально выходу биомассы, а синтез токсина В полностью прекращается [747, 982]. На рис. 6.5 показано влияние $A_в$ на синтез энтеротоксина В штаммом С-243 [1104]. При $A_в$ 0,97 токсин начал медленно образовываться через 40 ч, при 0,96 он не обнаруживался до конца наблюдения. При pH 6,0–6,9 токсин В быстро образуется в среде с 2–6% соли, а при pH 5,1 не образуется в средах, содержащих более 2% соли. В среде с 2–4% соли токсины образуются только при оптимальных для роста температурах. Оптимальная температура для роста стафилококков в средах, содержащих соль, повышается на 2° С [675].

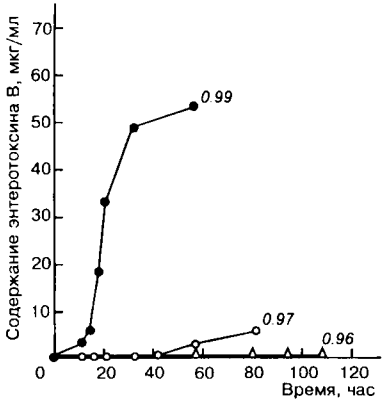


Рис. 6.5. *Влияние $A_в$ на образование S. aureus C-243 энтеротоксина B*

Минимальное значение $A_в$ для роста стафилококков зависит от содержания в среде кислорода: $A_в$ минимальная при росте стафилококков в аэробных условиях равна 0,83–0,86, в анаэробных – 0,90 [946, 982].

Взаимоотношения с другими микроорганизмами. Большая часть сапрофитной микрофлоры, в том числе и молочнокислых бактерий, подавляет или угнетает рост и токсинообразование стафилококков при совместном развитии [250, 397, 1104, 1308, 1295, 1521]. Так, Donnely et al. наблюдали скудный рост стафилококков в сыром молоке с высокой бактериальной обсемененностью и хороший рост и токсинообразование в том же молоке после пастеризации [250]. Микрофлора заквасок обладает неспецифическим и специфическим антагонизмом по отношению к стафилококкам. Антагонистической активностью к патогенным стафилококкам в забуференной среде обладали 20% штаммов молочного, 25% штаммов сливочного, 65,7% штаммов диацетильного лактококков, 33% штаммов лейконостоков, выделенных из природных субстратов [1381]. Специфическим антагонизмом по отношению к стафилококкам обладают многие штаммы *Lbc. plantarum* [397, 1308, 1295]. Лактококки при совместном росте со штаммом *Staph. aureus*, образующим токсин С, немного снизили накопление биомассы стафилококков, но на 69–89% снизили образование энтеротоксина [804]. В то же время *B. cereus* стимулирует образование токсинов стафилококками при совместном выращивании [1411].

Корейские ученые частично очистили антимикробное вещество «Бифилонг», образуемое *Bifidobacterium longum* [529]. Бифилонг сохраняет активность после нагревания в течение 30 мин при 100° С и pH 2,5–5,0. Он ингибирует рост *E. coli*, сальмонелл, стафилококков.

Фаза роста и образование энтеротоксинов. Энтеротоксин А образуется растущими клетками энтеротоксигенных штаммов стафилококков в экспоненциальной (80%) и ранней стационарной (20%) фазах развития; энтеротоксин В образуется в стационарной фазе. В сыроделии экспоненциальная фаза размножения стафилококков будет проходить во время выработки сыра в сырной ванне и на первых стадиях созрева-

ния, когда pH, $A_в$, Eh и температура сырной массы еще находятся в области, благоприятной для образования или, в крайнем случае, допускающей образование энтеротоксинов. Стационарная фаза начинается после сбраживания всей лактозы, снижения pH и температуры сыра до низких величин, ассимиляции растворенного в сырной массе кислорода, т. е. когда условия в сыре становятся непригодными или малопригодными для образования энтеротоксинов.

6.3.4. Источники обсеменения сыров стафилококками

В сырое молоко стафилококки могут попадать от животных и персонала молочных ферм непосредственно или через различные объекты внешней среды. При обследовании 10338 четвертей вымени здоровых коров стафилококки были обнаружены в 5,04% долей в количестве 60–3500 клеток/мл молока (в среднем 680 клеток/мл) [134]. По-видимому, стафилококки попадают в вымя тех коров, у которых неплотно закрывается сфинктер [1382].

При острых маститах стафилококковой этиологии молоко при выходе из вымени может содержать до 10^8 мл$^{-1}$ стафилококков, при субклинических – от 10^4 до 10^5 мл$^{-1}$ [738]. Количество маститных коров в стаде может достигать 58–70%, причем от 50 до 30% инфекционных маститов вызывают коагулазоположительные стафилококки [64, 820, 1219, 1414]. Широкое распространение стафилококковых маститов делает сырое молоко главным и наиболее обширным источником заражения молочных предприятий коагулазоположительными стафилококками.

Содержание коагулазоположительных стафилококков в сыром молоке зависит от условий его хранения и транспортировки на завод (табл. 6.10). Довольно распространенная практика транспортировки неохлажденного молока на молокоприемные пункты или непосредственно на завод сразу после дойки не обеспечивает надлежащего бактериального качества молока. Если количество стафилококков в молоке, сразу после дойки охлажденного до 8–10° С и хранившегося при этих температурах в течение 20 ч, в момент доставки на завод в среднем равнялось 460 КОЕ/мл патогенных стафилококков, то в неохлажденном молоке, доставляемом на завод через 3–5 ч после дойки, их количество возросло до $8{,}6 \cdot 10^4$ КОЕ/мл [1298].

Широкое распространение маститов, недостаточное и несвоевременное охлаждение сырого молока обусловливают высокое содержание в нем коагулазоположительных стафилококков [24]. Исследования 1850 проб сырого молока, поступившего на сырзаводы, расположенные в различных географических зонах СССР, выявили, что коагулазоположительные стафилококки в количестве более 100 КОЕ/мл присутствуют в 44,5% образцов, в т. ч. в 14,8% образцов их количество превышало 10^4 КОЕ/мл. В зависимости от завода число положительных проб молока на стафилококки варьировало в пределах от 17,8 до 95,6%, число проб с содержанием более 10^4 КОЕ/мл стафилококков – от 5,6 до 55,8%.

6.10. Влияние температуры и продолжительности хранения сырого молока на развитие в нем патогенных стафилококков [1080]

Обработка молока после дойки	Количество стафилококков (тыс./мл) после хранения в течение:		
	0 ч	5 ч	21 ч
Сразу охлаждено до 10° С	2,4	2,7	2,6
Охлаждено до 21–25° С и хранилось при температуре окружающей среды	2,4	6,5	3800,0
Не подвергалось принудительному охлаждению	2,4	400,0	22000,0

В начале 90-х гг. на заводы России поступило 18,5% молока, содержащего более $20 \cdot 10^3$ КОЕ/мл коагулазоположительных стафилококков, 40% молока содержало 2–10 тыс. КОЕ/мл этих микроорганизмов [1412]. В Англии в 70-х гг. число стафилококков в сыром молоке варьировало в пределах от меньше 10 до 6000 $мл^{-1}$ [64].

Большинство стафилококков погибает во время пастеризации, однако при высоком их содержании в исходном молоке (10^5–10^6 КОЕ/мл) количество стафилококков в сыре Российском, вырабатываемом со строгим соблюдением санитарных правил выработки сыров, было пропорциональным их содержанию в сыром молоке [1283]. В этом случае стафилококки сырого молока, часть клеток которых выдерживает пастеризацию, являются основным источником обсеменения сыров стафилококками.

Заражение молока коагулазоположительными стафилококками может происходить после пастеризации. Главными источниками послепастеризационного заражения молока стафилококками являются персонал и оборудование. От 36,8 до 76% здоровых людей являются носителями патогенных стафилококков [982, 1585, 1643]. При этом носители могут быть временными (транзиторными) и хроническими (резидентальными). Резидентальные носители должны своевременно выявляться и не допускаться к работе, требующей непосредственного контакта с продуктом. Особенно опасны работники, страдающие от стафилококковых инфекций (гнойничковых поражений кожи, ангин и других заболеваний верхних дыхательных путей). По сравнению с загрязнением сыра стафилококками из сырого молока послепастеризационные загрязнения более опасны, так как они в основном состоят из штаммов человеческого происхождения, находящихся в активной форме в момент попадания в молоко.

6.3.5. Рост и токсинообразование стафилококков в сырах

Критические концентрации энтеротоксигенных штаммов стафилококков ($N_{кр}$), необходимые для образования энтеротоксинов в сырах Чеддер и Гауда при нормальной скорости нарастания кислотности во время их выработки, равны $(15–33) \cdot 10^6$ КОЕ/г, при низкой кислотообра-

зующей активности закваски – $(3–5)\cdot10^6$ КОЕ/г [341, 397, 749, 967, 1328]. В сырах с высокой температурой II нагревания токсины начинают обнаруживаться при наличии не менее $7\cdot10^6$ КОЕ/г стафилококков, в «голубом» сыре их не нашли при наличии $50\cdot10^6$ КОЕ/г [64, 1064]. По-видимому, условия в грибных сырах не подавляют рост стафилококков, но препятствуют синтезу энтеротоксинов. Учитывая приведенные данные, можно считать, что для предотвращения стафилококковых токсикозов в сырах максимальное количество энтеротоксигенных стафилококков должно быть ниже $3\cdot10^6$ КОЕ/г.

Из твердых сыров за рубежом стафилококковые токсикозы в основном связаны с сыром Чеддер и его вариантами, в бывшем СССР в 70-х гг. зарегистрировано несколько пищевых отравлений сыром Российский с полной посолкой в зерне. Другие виды твердых сыров вызывают стафилококковые токсикозы намного реже. На основании анализа влияния внешних факторов на рост и токсинообразование стафилококков можно сделать вывод, что размножение стафилококков в сырах, созревающих в анаэробных условиях, должно прекратиться к окончанию сбраживания углеводов, когда pH достигает минимального значения. Чеддер и Российский относятся к сырам с повышенным уровнем молочнокислого брожения (pH после прессования 4,95–5,25). Это достигается применением повышенных доз закваски, чеддеризацией сырной массы (для Чеддера) или продолжительным прессованием и сравнительно большими размерами головки, в результате чего в сырной массе долгое время поддерживается благоприятная для роста микрофлоры заквасок температура. Условия, при которых рост стафилококков становится невозможным, должны в них достигаться раньше, чем в других видах твердых сыров. Однако в технологиях этих сыров есть и особенности, которые могут стимулировать рост стафилококков: обогащение сырной массы воздухом во время формования (Российский сыр формуют насыпью, а Чеддер – после дробления сырного пласта), более длительное поддержание температуры сырной массы на благоприятном для роста стафилококков уровне. В Чеддере и Российском сыре с полной посолкой в зерне уже на ранних этапах в сырной массе создается концентрация соли, благоприятная для развития стафилококков и ингибирующая рост микрофлоры закваски. При нормальной скорости молочнокислого брожения это не опасно, так как молочный сахар к этому моменту должен быть в основном сброжен. Однако при снижении активности микрофлоры закваски это крайне опасно. Полная посолка Российского сыра в зерне очень привлекательна для производства, теоретически возможна для этого вида сыра в связи с его пустотным рисунком, обусловленным способом формования. В сырах с правильным рисунком она никогда не применялась, так как вызывает дефекты рисунка, образуемого в результате жизнедеятельности микрофлоры закваски.

Изучено развитие стафилококков во время 125 выработок Российского сыра, результаты этих экспериментов представлены в табл. 6.11. Сыры вырабатывали в соответствии с действующей в 70-е гг. инструк-

цией, предусматривающей общую продолжительность прессования малого Российского сыра (масса головки 7–9 кг) 12–14 ч в осенне-зимнее и 10–12 ч в летнее время, для крупных сыров (масса головок 11–13 кг) – 16–18 ч. В сырах большинства выработок стафилококки энергично размножались во время выработки: с учетом семикратного увеличения содержания стафилококков в сгустке за счет механического захвата клеток свернувшимся белком они дали до прессования в среднем 4–5 генераций (продолжительность выработки в среднем равнялась 130 мин). Во время прессования размножение стафилококков продолжалось со значительно более низкой скоростью в сырах примерно 70 выработок. В среднем во время прессования в малом Российском сыре стафилококки дали менее одной генерации. По-видимому, главной причиной резкого снижения скорости размножения стафилококков в малом Российском сыре является быстрое снижение температуры сырной массы, поскольку в большом Российском сыре они размножались во время прессования более интенсивно.

В сырах 11 выработок содержание стафилококков перестало увеличиваться после 1 суток созревания, в сырах 8 выработок – после 2–3 сут созревания и в сырах 7 выработок – через 10 сут созревания. В сырах 2 выработок стафилококки вообще не размножались, в сырах 4 выработок они медленно размножались до конца созревания. Отсутствие размножения стафилококков в сырах двух выработок скорее всего связано с наличием в молоке бактериофагов стафилококков или специфичным антагонизмом со стороны микрофлоры закваски, которая была очень активна в этих выработках. Причиной же размножения стафилококков в сырах до конца созревания, очевидно, является подавление роста заквасочной микрофлоры бактериофагами.

6.11. Изменение содержания стафилококков в Российском сыре **[1299]**

Показатели	Исходная смесь	Сыры в возрасте:					
		до прессования	п/прессов.	1 сут	3-5 сут	10 сут	70 сут
Количество стафилококков, тыс./г	0,5	74,3	94,0	61,2	39,8	9,2	3
Доля сыров, в которых стафилококки достигли максимума, %	1,6	38,8	37,3	7,1	6,3	5,6	3,3

Вариабельность в продолжительности размножения стафилококков в сыре обусловлена главным образом изменениями скорости сбраживания лактозы и нарастания кислотности, о чем свидетельствуют результаты сопоставления pH сыров 92 выработок после прессования с увеличением численности стафилококков в них по сравнению с исходным содержанием в смеси (табл. 6.12). При оптимальной скорости кислото-

образования (pH сыра после прессования меньше 5,25) максимальное содержание стафилококков в сыре превышало исходное содержание в смеси в среднем в 50 раз, максимум в 273 раза. Если принять критическую биомассу стафилококков в сырах с нормальной скоростью молочнокислого брожения (биомасса, при размножении до которой стафилококков в сыре появляются токсины) равной $15 \cdot 10^6$ КОЕ/г, то этот уровень размножения стафилококков может быть достигнут при их исходном содержании в смеси $5 \cdot 10^4$ КОЕ/г ($15 \cdot 10^6 : 273$). Такое количество стафилококков в смеси может быть только при выработке сыра из сырого молока очень низкого бактериального качества.

6.12. Влияние скорости кислотообразования на размножение стафилококков в Российском сыре [1308, 1299]

pH сыров после прессования	Количество сыров	Отношение максимального количества стафилококков к исходному в смеси для выработки		Количество генераций стафилококков	
		среднее	пределы	среднее	пределы
<5,25	51	50	<1–273	2	0–5
5,26–5,40	18	105	1–635	3	0–6
5,41–5,60	13	334	10–2400	5	3–8
>5,6	10	3240	30–27200	8	4–13

Влияние степени посолки Российского сыра в зерне на развитие стафилококков показано на рис. 6.6. Сыры первого варианта в этом опыте (I и IV варианты на графике) солили в зерне так, чтобы после прессования концентрация соли в них не превышала 1%, после прессования их выдерживали 2 сут в рассоле; сыры II варианта (II и V варианты на графике) солили в зерне до 1,2–1,5% соли в сыре после прессования без последующей посолки в рассоле; сыры III варианта солили только в зерне до 1,6–2,0% соли [1297]. С увеличением дозы вносимой в зерно соли скорость кислотообразования снижалась, продолжительность размножения и выход биомассы стафилококков увеличивались.

При очень сильном понижении скорости кислотообразования (pH сыра после прессования выше 5,6) в смеси достаточно присутствия около 100 КОЕ/мл энтеротоксигенных штаммов стафилококков для образования энтеротоксинов в сыре. В этом случае критическая биомасса стафилококков снижается до $3 \cdot 10^6$ КОЕ/г, так как в сырной массе синтез токсинов ускоряется при повышении ее pH. 100 КОЕ/г стафилококков могут попасть в смесь в результате нарушения санитарных правил при выработке сыра.

В сыре Манчего из смеси овечьего, коровьего и козьего молока (испанский сыр с низкой температурой II нагревания и достаточно высокой концентрацией соли в водной фазе), выработанном с 0,1 и 1,0% закваски из смеси, обсемененной стафилококками, содержался энтеротоксин А в количестве 46–769 и 16–33 нг/100 г соответственно [370].

Таким образом, любое снижение скорости молочнокислого процесса во время производства сыра повышает риск стафилококковых токсикозов. Особенно это опасно для сыров с продолжительным прессованием, большими размерами головок, в которых более длительное время сохраняются благоприятные условия для синтеза энтеротоксинов. Так, если в малом Российском сыре за время прессования количество стафилококков увеличилось в 1,34 раза, то в большом Российском сыре – в 11 раз; количество стафилококков в малом сыре увеличилось по сравнению с исходным в среднем в 168 раз (4–5 генераций), в большом сыре – в 3125 раз (8–9 генераций) [1405]. На основе этих исследований была запрещена полная посолка Российского сыра в зерне, как фактор снижения скорости развития микрофлоры закваски, снят с производства большой Российский сыр, сокращена продолжительность прессования Российского сыра до 5–8 ч, увеличена максимальная доза закваски с 1 до 2,5%. С момента введения этих изменений прошло более 20 лет, в течение которых не было зарегистрировано ни одного случая стафилококковых токсикозов при употреблении этого вида сыра.

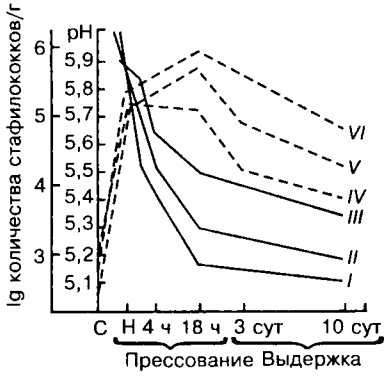


Рис. 6.6. *Влияние степени посолки в зерне на изменение pH и развитие стафилококков в Российском сыре (средние данные по шести выработкам каждого варианта в экспериментальных условиях): I, II, III – pH смеси при содержании соответственно 1,6; 2,8 и 3,9% соли в водной фазе сыров после прессования; IV, V, VI – lg количества стафиллококков при содержании, соответственно, 1,6; 2,8 и 3,9% соли в водной фазе сыра после прессования; С – смесь после внесения стафилококков; Н – начало прессования сыра*

Внесение в молоко для выработки египетского твердого сыра Рас штаммов *S. aureus*, образующих токсины А и В, в количестве $1 \cdot 10^5$ и $1 \cdot 10^7$ КОЕ/г не привело к образованию энтеротоксинов; жизнеспособные клетки *S. aureus* перестали обнаруживаться в сырах через 30 и 45 сут

созревания [762]. Сыр Рас (в Греции Kefalotyri) вырабатывают по технологии, подобной технологии сыра Гауда, но II нагревание проводят при 44° С в течение 30 мин, что обусловливает низкую влажность сыра (34,2% в шестимесячном возрасте) [839]. Сыр солят частично в зерне (удаляют сыворотку после II нагревания и добавляют к зерну 1–2% соли по отношению к исходному молоку), смесь выдерживают 15 мин, формуют и прессуют в течение ночи, после чего сыр солят сухой солью с поверхности в течение 12 сут. Сыр содержит в шестимесячном возрасте 2,9% соли (7,8% в водной фазе). Созревает сыр 4–6 мес при 15–18° С. В качестве закваски используют *Lbc. bulgaricus* и *Lc. lactis* [839]. Отсутствие токсинов в сырах Рас, выработанных из массивно обсемененного энтеротоксигенными штаммами стафилококков молока, вызывает удивление. Проверка 50 промышленных сыров Рас в районе Каира обнаружила в них в среднем $2{,}6 \cdot 10^6$ КОЕ/г стафилококков, из 60 выделенных из этих сыров штаммов стафилококков 6 образовывали токсин А; в сырах токсины не обнаружены [667]. Причины этого, возможно, заключается в комбинации двух факторов: быстрого нарастания кислотности сырной массы, обусловленной синергетическим действием лактобацилл и лактококков, и низкой $A_в$. Возможно, что болгарская палочка предотвращает образование токсинов стафилококками за счет специфического антагонизма.

Вызывает также удивление отсутствие стафилококковых энтеротоксинов в кисломолочном сыре Бургос, выработанном из пастеризованного овечьего молока, инокулированного штаммами *S. aureus* в дозе до 10^5 КОЕ/мл, несмотря на высокие уровни pH и $A_в$ [803]. Содержание стафилококков в этих сырах во время хранения при 10–15° С увеличилось до 10^7 КОЕ/г, но токсины не были обнаружены. В одной трети промышленных образцов этого сыра в Испании обнаружена термостойкая термонуклеаза, что свидетельствует об их крайне низком гигиеническом уровне, но стафилококковые токсины не найдены ни в одном образце [685].

Скорость вымирания стафилококков в сырах варьирует в широких пределах: при наиболее высокой скорости вымирания содержание жизнеспособных клеток стафилококков к концу созревания снижалось более чем в 1000 раз, при низкой – в 10 раз. Количество жизнеспособных клеток стафилококков в Российском сыре начинает снижаться раньше, чем в нем исчезает лактоза [1155]. Это же наблюдали в сырах голландского типа Stadhouders et al.; они пришли к заключению, что pH 5,2 достаточен для подавления роста стафилококков в твердых сырах [64, 1018]. Повышение температуры созревания с 7 до 13° С ускорило вымирание стафилококков [64].

При нормальном процессе выработки стафилококки в сыре Чеддер дают 2–7 генераций, при низкой скорости кислотообразования – 8–9 генераций [1328], что близко к интенсивности их развития в сыре Российский. В Швейцарском и Эмментальском сырах они дают 4–5 генераций

[1098] и быстро вымирают [1094, 1155]. В сырах типа Гауда стафилококки дают 3–6 генераций в течение первых 24 ч. В сыре Эрв (типа Лимбургского), выработанном из сырого молока, содержащего 30–100 клеток/мл стафилококков, их количество перед посолкой увеличилось до $1{,}3 \cdot 10^4$–$2 \cdot 10^6$ $г^{-1}$ [64]. Кислотность в этих опытах быстрее росла в сырах, выработанных из молока низкого бактериального качества, содержание стафилококков было намного ниже в сырах из молока с высокой исходной бактериальной обсемененностью.

Содержание стафилококков в сырах нормируется в большинстве стран. Обычно считается, что в зрелых сырах не должно быть более 10–1000 КОЕ/г коагулазоположительных стафилококков [486]. Однако этот показатель недостаточен для оценки безопасности сыров относительно стафилококковых отравлений из-за большой вариабельности скорости гибели стафилококков во время созревания сыров. Точным показателем является отсутствие стафилококковых энтеротоксинов в сыре, но методы определения энтеротоксинов слишком сложны и дороги. Гарантией безопасности должна быть правильно функционирующая система контроля производства сыра по критическим контрольным точкам, которая должна включать контроль содержания стафилококков в сырах 1–3-суточного возраста и скорости кислотообразования, в частности pH после прессования.

6.4. *Listeria monocytogenes*

6.4.1. Общие свойства, патогенность

В последние десятилетия особое внимание уделяется *Listeria monocytogenes* в связи с несколькими тяжелыми вспышками листериозов в Канаде, США, Швейцарии, Англии, Дании, Франции, Германии, вызванных потреблением сырого и пастеризованного молока, сыров без созревания, мягких сыров [211, 388, 809]. Вспышки повлекли человеческие жертвы.

List. monocytogenes – грамположительные, не образующие спор палочки с закругленными концами, диаметром 0,4–0,5 мкм, длиной 0,5–2,0 мкм, иногда почти кокки, расположенные по одиночке или в коротких цепочках, редко в длинных нитях, иногда параллельно друг другу, Y- или V-образно. В старых культурах могут образовывать нити [1552]. Подвижны при 20–25° С, но не при 37° С, каталазоположительны. Факультативные анаэробы, метаболизм бродильный [102, 477, 1552]. Растут при минимальных парциальных давлениях кислорода. Глюкозу сбраживают с образованием преимущественно L(+)-молочной кислоты, газ не образуют [388]. Для роста необходимы углеводы [906], однако хорошо растут в жидкой среде – сырном экстракте с урожаем жизнеспособных клеток 10^8 КОЕ/г [102]. В зависимости от штамма медленно образуют или совсем не образуют кислоту из лактозы.

List. monocytogenes дает положительные реакции в пробах с метиловым красным и на образование диацетила и ацетоина, экзогенные цитра-

ты не использует. На питательном агаре образует круглые, слегка приподнятые, с диаметром 0,5–1,5 мм колонии. При обычном освещении колонии имеют голубовато-серый, при боковом освещении – голубовато-зеленый цвет [477].

List. monocytogenes патогенна для человека и многих животных. Листериозы чаще бывают у животных. Редко, но может вызывать маститы у коров [497]. По-видимому, это единственный вид, который может вызывать листериозы пищевым путем. Вызываемые им заболевания характеризуются высокой смертностью (до 46%) [709]. Патогенность *List. monocytogenes*, по крайней мере частично, обусловлена образованием белка, подобного токсину холеры, который вызывает воспаление желудка и кишечника, а также продукта метаболизма – гемолизина [388, 972]. Наиболее чувствительны к заболеваниям листериозом лица с низкой активностью иммунных систем, беременные, молодежь [65, 906].

Минимальная инфицирующая доза для мышей при перитониальном введении равна $2 \cdot 10^4$ клеток, при оральном – $2 \cdot 10^4$–$1{,}9 \cdot 10^6$ клеток; инфицирующая доза для людей не установлена. Свежий сыр, вызвавший вспышку листериоза в Калифорнии, содержал 100–1000 КОЕ/г *List. monocytogenes* [809, 916]. Органы здравоохранения США считают, что в сырах и других готовых к употреблению продуктах *List. monocytogenes* должна отсутствовать [388].

6.4.2. Распространение в природе и молочных продуктах

Широко распространена в природе: в почве, воде, гниющих растительных массах, силосе плохого качества, сточных водах, в фекалиях не только больных, но и здоровых людей и животных (этот вид обнаружен в 0,6% образцов фекалий здоровых людей) [477]. В США при обследовании 357 молочных предприятий листерии были обнаружены на 9 предприятиях [306], в зависимости от местности в 4,2–12,0% сырого молока и 2,5% молочных продуктов [477]. Источниками заражения молочных продуктов листериями могут быть оборудование, вода для мойки, рассол, воздух, поверхности полов, стен, дренажные стоки [776].

В США *List. monocytogenes* была обнаружена в 12% сырого молока, отобранного из танков и молочных цистерн [416]. В 4,4% образцов сырого молока в Нидерландах содержалась *List. monocytogenes* в количестве меньше 100 $мл^{-1}$ [62]. В Испании *List. monocytogenes* обнаруживалась в 45% образцов сырого молока, причем степень обсеменения ею молока была выше в осенне-зимний период (50–75% образцов молока) во время скармливания силоса и наличия большого количества стельных коров, которые более склонны к заболеваниям листериозами, чем лактирующие коровы (14–36% образцов молока) [247, 341].

Основным источником заражения листериями сырого молока являются корма (сено, концентраты и особенно силос плохого качества и др.) и фекалии. Обследование 4-х молочных ферм в США выявило на-

личие листерий в кормах, которые были хорошего качества, в количестве не более 100 клеток/г [470]. *List. monocytogenes* в кормах не была обнаружена. Листерии (в основном *List. monocytogenes*) были обнаружены в фекалиях 11,9% коров.

В других исследованиях на 7 молочных фермах, некоторые коровы на которых были больны маститами листериальной этиологии, листерии были обнаружены в 82% кормов и 67% фекалий, в т. ч. *List. monocytogenes* в 62% кормов в 51% фекалий [973].

На одной ферме, молоко с которой явилось источником 4-х случаев обсеменения сыра *List. monocytogenes*, обнаружена корова, в фекалиях которой присутствовал этот вид; сборное молоко на этой ферме заражалось листериями в танке для хранения молока [177]. В молоке листерии находятся в свободном виде или внутри лейкоцитов [906].

Выделение листерий в молоко коровами, перенесшими заболевания маститом, вызванным листериями, может происходить в течение до 3 лет в количествах до $(1–2)\cdot10^4$ клеток/мл (в среднем 240 клеток/мл), причем коровы будут оставаться клинически здоровыми [255, 302, 781, 906].

Немецкие исследователи, обследовав на наличие листерий 9000 промышленных сыров, пришли к выводу, что загрязнение сыров листериями в основном происходит не из молока, а через оборудование [1344].

Исследование 706 образцов промышленных сыров, выработанных в разных странах, выявило наличие листерий в 58 сырах, в том числе *List. monocytogenes* обнаружена в 18 образцах (2,6%) [1067]. *List. monocytogenes* обнаружена в 7, 6 и 1 образце соответственно мягких, полутвердых и кисломолочных сыров в ФРГ. Учитывая частоту обнаружения и количество *List. monocytogenes* в сырах, автор делает вывод, что опасность заболевания листериозом, вызванного употреблением твердых сыров, существует лишь для людей с ослабленным иммунитетом, особенно беременных женщин.

В Италии листерии обнаружены в 8,3% сырого молока и 7,3% сыров; *List. monocytogenes* составила соответственно 33 и 12,5% от числа выделенных штаммов [232]. Она также присутствовала в количестве от 10^3 до 10^6 КОЕ/мл в 9 из 69 образцов мягких сыров, выработанных во Франции из сырого молока [62, 915]. В сырах из пастеризованного молока она не была обнаружена. В феврале-марте 1986 г. в США забраковано 60% сыра Бри, выработанного во Франции, из-за наличия *List. monocytogenes* [946]. Проверка 12 свежих, 21 мягкого и 10 полутвердых сыров в Бельгии обнаружила *List. monocytogenes* в 1 полутвердом и 3 мягких сырах [1143].

List. monocytogenes в рассольных сырах выживает в течение 15–60 сут, в сыре Коттедж при 3° С – 28 сут, в Чеддере при 6° С – до 434 сут [915]. В Камамбере, выработанном из экспериментально обсемененного *List. monocytogenes* (около 500 КОЕ/мл) и созревающего при 6° С молока, в 65-суточном возрасте содержалось $(1–15)\cdot10^6$ КОЕ/г листерий [916].

Возможным источником заражения сыродельных предприятий листериями может быть вода, применяемая для технических целей, насекомые, грызуны [388], а также препараты сычужного энзима, в кото-

рых они могут выживать в зависимости от степени обсеменения в течение 14–42 сут [274].

6.4.3. Термоустойчивость

Противоречивы данные о способности листерий выдерживать пастеризацию молока. Значение Д для *List. monocytogenes* в молоке при 71,1° С равно 0,9–2,7 с, при 74,4° С – 0,7 с [117]. Это означает, что пастеризация молока при 71,1° С в течение 15 с снизит содержание клеток этого вида более чем на 5 порядков, а при 74,4° С – более чем на 20 порядков. Учитывая низкое содержание листерий в сыром молоке, можно считать, что пастеризация уничтожает листерии. Карликанова считает, что пастеризация в сыроделии обеспечивает надежный бактерицидный эффект при исходном обсеменении молока листериями до 10^3 КОЕ/мл [1408].

Венгерские ученые не обнаружили листерий в молоке, пастеризованном при 73° С, но нашли их в молоке, пастеризованном при более низких температурах [310]. Они считают, что жизнеспособные клетки листерий обнаруживаются в пастеризованном молоке, если до пастеризации в молоке было больше 10^8 КОЕ/мл этих бактерий.

Stainer et al. обнаружили жизнеспособные клетки *List. monocytogenes* в молоке, пастеризованном при 74° С в течение 42 с [1020]. Молоко в их опытах было инокулировано очень большим количеством листерий ($5 \cdot 10^8$ клеток/мл). Doyle et al. пастеризовали молоко, инокулированное *List. monocytogenes*, при 71,7–73,3° С в течение 16,4 с и 76,4–77,8° С в течение 15,4 с и обнаружили жизнеспособные клетки листерий в 6 из 9 образцов молока, пастеризованного при первом режиме, и не нашли их ни в одном образце молока, пастеризованного при более высокой температуре. Авторы сделали вывод о повышении терморезистентности клеток листерий, заключенных в лейкоцитах [255]. Во время 4-суточного хранения молока при 4° С листерии лизируют лейкоциты, что повышает их чувствительность к пастеризации молока. В последующих опытах существенных различий в терморезистентности клеток листерий, находящихся в молоке в свободном виде и заключенных в лейкоциты (значение Д при 71,7° С равнялось 3,1 с для свободных и 5 с для содержащихся в лейкоцитах клеток), не найдено [301, 302, 388]. В опытах нидерландских ученых значения Д для наиболее термоустойчивых штаммов *List. monocytogenes* при 64 и 66° С равнялись, соответственно, 17 и 8 с, следовательно, даже при термизации их содержание в молоке снизится на 5–7 порядков [781]. Заключенные в лейкоциты клетки в зависимости от штамма листерий, по данным ряда авторов, или не отличались по термоустойчивости, или обладали немного большей термоустойчивостью по отношению к свободно ресуспензированным в молоке клеткам [162, 781]. В опытах Bunning et al., однако, пастеризация при 71,7° С в течение 15 с молока, содержащего 10^4 $мл^{-1}$ клеток *List. monocytogenes*, заключенных в фагоциты, оказалась недостаточной для уничтожения листерий [131].

После пастеризации молока, инокулированного $5 \cdot 10^6$ клеток/мл *List. monocytogenes*, при 72° С, в молоке постоянно наблюдали «хвосты выживания» – 100–1000 жизнеспособных клеток/мл листерий [249]. При проверке эффективности пастеризации молока в запаянных ампулах термоустойчивость листерий оказалась ниже, чем в среде с открытым доступом воздуха.

Жизнеспособные клетки не были обнаружены в молоке, пастеризованном при температурах от 69 до 73° С в течение 15 с, сразу после тепловой обработки, но были найдены в 46,6% этих же образцов после их хранения в течение 1–3 недель при низких температурах; в образцах молока, пастеризованных при 73° С, они не были обнаружены даже после 3 недель холодильного хранения [340]. При подсчете количества выдерживающих пастеризацию клеток листерий предварительная их реактивация при низких температурах увеличивает степень выявления примерно в 30 раз [781]. Таким образом, часть клеток *List. monocytogenes* во время пастеризации получает только сублетальные повреждения, которые впоследствии репарируются с полным восстановлением активности клетки. При 4° С восстановление активности поврежденных пастеризацией клеток начиналось после 3-х дней и не завершилось через 15 дней; при 10° С активность восстанавливалась через 9–14 ч [1502].

В опытах по выживанию листерий во время пастеризации использовали массивное загрязнение молока до тепловой обработки клетками *List. monocytogenes* – $(3–200) \cdot 10^6$ КОЕ/мл, которое вряд ли может быть на практике. В настоящее время большинство исследователей сходится во мнении, что наиболее вероятной причиной попадания листерий в молочные продукты является не выживание клеток во время тепловой обработки, а загрязнение продуктов листерией после пастеризации. Тем не менее, нельзя исключить опасность выживания отдельных клеток *List. monocytogenes* в молоке при наиболее мягких из числа допустимых режимах пастеризации [216]; при опасности загрязнения сырого молока *List. monocytogenes* пастеризацию молока лучше проводить при 75–76° С. Правда, официальное заключение органов здравоохранения США гласит, что пастеризация молока при 71,7° С в течение 15 с снижает в нем содержание листерий до уровня, безопасного для здоровья потребителя [1118].

6.4.4. Отношение к другим внешним факторам

Оптимальная температура для роста *List. monocytogenes* лежит между 30 и 37° С, температурные границы роста 1–45° С [477]. Отличительным и наиболее опасным для молочной промышленности свойством *List. monocytogenes* является способность расти при температурах 1–4° С, что способствует ее выживанию во внешней среде и увеличивает опасность передачи листериозов через продукты после холодильного хранения. Патогенность этого вида при низких температурах возрастает [388].

Время генерации и продолжительность лаг-фазы *List. monocytogenes* при низких температурах (25,3–36,6 ч и до 5 сут при 4° С) превышают эти показатели для психротрофов (среднее время генерации при 2° С 15 ч), и поэтому *List. monocytogenes* следует рассматривать как мезофильный микроорганизм с очень низкими минимальной и оптимальной температурами для роста (рост *List. monocytogenes* при различных температурах показан на рис. 6.7) [302, 388]. Она не может успешно конкурировать с психротрофами, в частности с *Pseudomonas*, во время роста при низких температурах в молоке. *Lbc. plantarum* подавляет ее рост при низких температурах. В опытах Walker & Archer время генерации трех штаммов *List. monocytogenes* в курином бульоне и УВТ молоке при 5° С равнялось 13–24 ч, при 0° С – 62–131 ч.; предварительная выдержка культуры при 4° С снижала время генерации [1146].

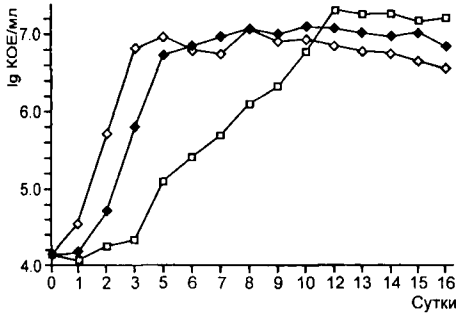


Рис. 6.7. *Рост List. monocytogenes в естественно зараженном молоке, хранимом при 4 ( ), 10 (♦) и 15 (◊) °С*

Оптимальный pH лежит в нейтральной или слабощелочной зонах [477]. В ранних работах указывалось, что *List. monocytogenes* не может размножаться при pH ниже 5,5–5,6 [388, 990]. Однако анализ последних работ опровергает это мнение. В Канаде зарегистрирована вспышка листериоза, вызванная потреблением квашеной капусты с pH 5,0. Отмечено размножение этого вида во время самопрессования сыра Камамбер, длившегося 24 ч при температуре 21–25° С, во время которого pH сыра изменился с 5,3–5,5 до 4,6 [250]. В сыре Чеддер содержание *List. monocytogenes* увеличилось в период, когда pH сыра снизился с 5,5 до 5,1 [916]. В то же время в сырной пасте, приготовленной из освобожденного от плесеней сыра Камамбер, с pH 4,6; 5,6; 6,1 и 7,4 (pH возрастал с увеличением возраста сыра) *List. monocytogenes* размножалась только при pH 7,4 и 6,1. Возможно, в этом случае сыграли роль не pH, а какие-то другие особенности состава сырных паст.

Американскими учеными изучено влияние на рост *List. monocytogenes* в триптическом соевом бульоне pH (4,4; 4,6; 4,8; 5,0 и 5,2), температуры (10, 25 и 35° С), типа кислоты (соляной, уксусной – АА, молочной – МК, лимонной – ЦК и яблочной – ЯК) и продолжительности инкубации (1, 3, 7, 14 и 28 дней) [990]. По антимикробиальной активности при равных pH кислоты распределялись следующим образом: АА > МК > ЦК >

> ЯК > HCl независимо от температуры и продолжительности инкубации. При равных молярных концентрациях порядок был следующим: ЦК = ЯК > МК = АА > HCl при 35 и 25° С и ЯК > ЦК > АА = МК > HCl при 10° С. Наибольшая антимикробиальная активность была при 35° С, максимальный рост – при 25° С, максимальная выживаемость – при 10° С. Конечный pH через 28 сут инкубации в присутствии HCl – 3,8; в присутствии МК некоторые штаммы росли при pH 5,0, но не 4,8. При низких температурах не растет при pH ниже 5,0 [65]. Таким образом, устойчивость *List. monocytogenes* к низким значениям pH значительно выше, чем предполагалось раньше. При использовании серной кислоты для доведения pH до заданной величины *List. monocytogenes* не росла при 20° С и pH ниже 4,95, а также при 25, 30 и 35° С и pH ниже 4,6 в течение 24-часовой инкубации [703].

Карликановой установлена возможность размножения *List. monocytogenes* при pH 4,2 в присутствии молочной кислоты [1411]. Наиболее выраженное бактерицидное действие на *List. monocytogenes* отмечено при внесении их в культуральную среду с *Lbc. acidophilus* и под влиянием растворов низина в концентрации 10 МЕ/мл. Выявлена довольно высокая термоустойчивость испытанных штаммов листерий.

List. monocytogenes выживала в сквашенном молоке и йогурте с pH 3,76–4,06 в течение 9–25 сут при 4° С [890].

Размножение *List. monocytogenes* прекращалось при снижении $A_в$ в среде ниже 0,942 (при использовании в качестве регулятора $A_в$ поваренной соли); они сохраняют жизнеспособность, но не размножаются в присутствии в среде 5% соли [388]; могут выживать в питательном бульоне с 10% NaCl [477]. По другим данным, этот вид рос в присутствии 6% соли при 22° С, в сыворотке с pH 5,65, обезжиренном молоке с pH 6,20 [813]. Время генерации в зависимости от штамма равнялось в сыворотке 3,56–3,67 ч, в молоке – 4,31–4,42 ч. В присутствии 12% соли роста не было. Продолжительность выживания в средах с высокими концентрациями NaCl увеличивается с понижением температуры: в присутствии 25,5% соли *List. monocytogenes* погибла при 37° С через 5 дней, при 4° С – через 132 дня (Shahamat et al., 1980) [477]. 10^4 КОЕ/мл *List. monocytogenes* полностью погибали в течение 4 недель при 30° С и pH 4,66; при 10° С и pH 4,36; при 5° С и pH 4,19 [182]. При 4–6% соли в среде выживаемость листерий повышалась, при более высоких концентрациях снижалась. Рост при 6° С даже в присутствии только 0,5% соли сильно снижался при увеличении концентрации лизоцима с 0,02 до 0,06% [218]. *List. monocytogenes* сохраняли жизнеспособность более 36 час в 22 %-ном рассоле, использованном для посолки сыра [1662].

Гипохлорит и органические хлорсодержащие дезинфицирующие растворы в концентрации 50–100 частей свободного хлора на млн. так же эффективны против листерий, как и против сальмонелл [565, 659]. Они выживают в растворах хлорных, йодных и четвертичноаммонийных препаратов в концентрации 10 мг/кг, в растворах фенольных пре-

паратов этой же концентрации погибают [565]. По другим источникам, минимальные концентрации гипохлорита, йода и четвертичного аммония для дезинфекции поверхностей из нержавеющей стали были равны 130, 30 и 425 частей на млн. соответственно при 20° С и 450, 65, 1250 частей на млн. при 4° С [668].

Присутствие органических веществ, особенно молока, оказывает защитное действие на листерии [78]. Хлорамин, фосфорная кислота, йодоформ и формальдегид были эффективны и в присутствии органических веществ. Листерии слабо чувствительны к лизоциму [1415].

Выраженное бактерицидное действие на *List. monocytogenes* оказывает *Lbc. acidophilus* и низин в концентрации 10 ед/мл [1408]. Лактококки ингибируют рост листерий в среде независимо от pH [388], часть штаммов молочного лактококка образует бактериоцины, активные по отношению к листериям [151]. Отдельные штаммы лейконостоков оказывают бактерицидное действие на *List. monocytogenes* [406].

В США рекомендуется для подавления роста листерий вносить в молоко для выработки сыров педиоцины – антилистериозные вещества, образуемые педиококками, – в очищенном виде или в виде продуцентов [1494]. Противоречивы сведения о чувствительности листерий к нитритам [320, 388].

Ионизирующее облучение (ИО) является альтернативной пастеризации в сыроделии [1244]. Однако использование ИО ограничено появлением пороков в облученных сырах. В сырах Камамбер такие пороки появлялись при поглощенной дозе γ-лучей 3 кГр. В экспериментальных условиях при искусственном заражении сыров необходимые дозы ИО для десятикратного снижения содержания *List. monocytogenes* и *S. enteritidis* составляли соответственно 0,5 и 0,6 кГр. Поэтому поглощенной дозы в размере 2,5 кГр вполне достаточно для надежного их уничтожения в сырах Камамбер из сырого молока, содержащем *List. monocytogenes* и *S. enteritidis* в концентрациях 10000 и 1000 клеток/г.

6.4.5. Развитие *List. monocytogenes* в молоке и сыре

Биомасса *List. monocytogenes* в чистой культуре в молоке при 15 и 25° С достигает уровня более 10^7 КОЕ/мл, при 32° С – 10^8 КОЕ/мл [857]. Среднее время генерации в зависимости от штамма при 15 и 25° С равно 3,2–5,2 ч, при 32° С – 3,3 и 2,6 ч. В присутствии ацидофильной палочки выход биомассы снижается в 25–1000 раз. Прекращает размножаться в молоке при pH меньше 4,75.

Добавление в молоко закваски ингибирует рост *List. monocytogenes* при 4 и 7° С [1162]. В молоке с контролируемым pH (6,9–7,0) после 30 ч инкубации количество клеток *List. monocytogenes* составило при 21° С 10^6–10^7, при 30° С – 10^8 в 1 мл; при инокуляции вместе с листерией в эту же среду 0,25 и 1% культуры *Lc. cremoris* началось ингибирование роста листерий соответственно через 18 и 24 часа [1161]. Сходные ре-

зультаты получены и при более низких pH [1163]. Авторы делают вывод о невозможности предотвращения роста *List. monocytogenes* во время приготовления закваски в средах с pH, удерживаемым на уровне не ниже 5,5.

Развитие *List. monocytogenes* во время производства и созревания сыров Гауда и Маасдам (сыр тех же размеров, что и Гауда, созревающий при участии пропионовокислых бактерий) изучали Northolt et al. [781]. Сыр Гауда вырабатывали в первой ванне с внесением 0,6% мезофильной закваски, во второй ванне – с 0,3% закваски для того, чтобы снизить скорость кислотообразования и повысить содержание влаги в сыре после прессования до 45%. Температуры свертывания во всех вариантах равнялись 30° С, II нагревания – 35,5° С, pH сыров перед посолкой равнялся 5,5, температура рассола 13° С. Сыры Гауда созревали при 13° С, относительной влажности 88% (первая ванна) и 92% (вторая ванна); сыр Маасдам созревал 2 недели при 13° С, затем 2 недели при 18° С и далее при 4° С и относительной влажности 88%. Молоко в ванне инокулировали двумя штаммами *List. monocytogenes*. Результаты этого опыта приведены в табл. 6.13.

***6.13. Изменение содержания List. monocytogenes во время выработки и созревания сыров Гауда и Маасдам* [781]**

Вид сыра	Вариант	Содержание *List. monocytogenes*, КОЕ /г, мл						
		Молоко в ванне	Сыры					
			6 ч	24 ч	2 недели		6 недель	
					П[1)]	Г[1)]	П[1)]	Г[1)]
Гауда	I	$5 \cdot 10^2$	$1{,}9 \cdot 10^4$	$1{,}3 \cdot 10^4$	<100	$1{,}5 \cdot 10^4$	$1{,}3 \cdot 10^3$	$1{,}6 \cdot 10^3$
Гауда	II	$5 \cdot 10^2$	$2{,}9 \cdot 10^4$	$2{,}8 \cdot 10^4$	<100	$2{,}0 \cdot 10^4$	$2{,}2 \cdot 10^4$	$7{,}8 \cdot 10^3$
Маасдам		$5 \cdot 10^2$	$2{,}1 \cdot 10^4$	$1{,}5 \cdot 10^4$	<100	$9{,}3 \cdot 10^3$	$1{,}0 \cdot 10^2$	$3{,}6 \cdot 10^3$

[1)]П – на поверхности головки; Г – в глубине головки.

В шестичасовых сырах Гауда (I) и Маасдам pH равнялся 5,48 и 5,44 соответственно, что характерно для нормальной скорости кислотообразования, в сыре Гауда (II) он был равен 6,02, что характеризует низкую скорость кислотообразования. Содержание листерий за время выработки увеличилось примерно в 10 раз за счет механического захвата клеток, о чем свидетельствует распределение клеток листерий между сгустком и сывороткой. За счет размножения количество листерий увеличилось за время выработки в 3,8–5,8 раз, причем в варианте с замедленным кислотообразованием и повышенной влажностью сыра интенсивность размножения листерий была выше на очень небольшую величину.

В 2-недельных сырах содержание листерий было одинаково во всех сырах и незначительно отличалось от их содержания в 6-часовых сырах, что свидетельствует об отсутствии их размножения и гибели листерий в первые 2 недели созревания.

В глубинных слоях 6-недельных сыров содержание листерий несколько снизилось по сравнению с их содержанием в 2-недельных сырах. Различий в скорости снижения содержания жизнеспособных клеток листерий между сырами не было. В поверхностных слоях 6-недельных сыров было выявлено больше жизнеспособных клеток листерий, чем в 2-недельных сырах, но авторы объясняют это не размножением *List. monocytogenes* на поверхности сыров, а реактивацией ее клеток, находящихся на поверхности сыров в состоянии осмотического шока в результате контакта с рассолом. Однако позднее Northolt отмечал, что этот вид может размножаться на любой стадии созревания сыра [782]. Другие исследователи обнаружили листерии в количестве до 10^6 $г^{-1}$ только на поверхности твердых сыров, причем они обнаруживались в одинаковых количествах в сырах из сырого и пастеризованного молока [121]. Авторы этого сообщения делают вывод о загрязнении поверхности сыров листериями во время их созревания. Низкая скорость кислотообразования и различия в температурах созревания сыров не оказали существенного влияния на развитие *List. monocytogenes*, что согласуется с отношением этого вида к pH и температуре.

Сходные результаты получены при изучении развития *L. monocytogenes* в сыре Чеддер [915] и полутвердых испанских сырах [246]. Количество листерий, внесенных в молоко после пастеризации, увеличилось во время выработки сыра Чеддер на 0,1–0,8 lg КОЕ/г при снижении pH сыра с 5,5 до 5,1; во время созревания оно медленно снижалось. При внесении в молоко после пастеризации 500 клеток/мл жизнеспособные клетки *List. monocytogenes* обнаруживали в сыре Чеддер, в зависимости от штамма, но не от температуры созревания (6 и 13° С), в течение 154–434 сут.

В сырах с высокой температурой II нагревания из сырого молока, инокулированного 10^4–10^6 КОЕ/мл *List. monocytogenes*, листерии не обнаруживались через сутки после выработки [39, 523]. В опытах других авторов с инокуляцией молока после пастеризации такой же дозой *List. monocytogenes* количество ее выросло за время выработки в 6–10 раз, она перестала обнаруживаться в сыре Пармезан в зависимости от штамма через 3–16 недель созревания [1177].

Во время выработки сыра Камамбер (до посолки) содержание клеток *List. monocytogenes* в сгустке увеличилось по сравнению с исходным в молоке (механического увеличения содержания клеток листерий в сгустке при выработке Камамбера, Чеддера и Коттедж не происходит) в зависимости от штамма на 0,38–0,71 lg КОЕ/г [916]. В течение первых 18 сут созревания количество клеток трех из четырех штаммов *List. monocytogenes* уменьшилось в 10–100 раз, содержание клеток четвертого штамма не изменилось. Все штаммы начали размножаться в сырах, начиная с 18 сут созревания, и их количество достигло $(1–50)\cdot10^6$ КОЕ/г к 65-суточному возрасту. Изменение содержания листерий в Камамбере во время созревания связано с повышением pH сыра в результате жиз-

недеятельности микрофлоры (гл. 8). В сыворотке, образующейся при производстве сыра Камамбер, *List. monocytogenes* не росла при pH меньше 5,4; при увеличении pH сыворотки в связи с развитием микрофлоры, использующей молочную кислоту в качестве энергетического субстрата, листерия размножается пропорционально степени повышения pH [917].

Развитие листерий в сыре Камамбер можно подавить использованием заквасок, обладающих специфическим антагонизмом к этим бактериям, если обсеменение сыра листериями произошло не раньше чем перед посолкой [1676].

В сырах с красной слизью и поверхностной плесенью, выработанных из молока, содержащего 95 клеток/мл *List. monocytogenes*, ее количество в поверхностном слое начало возрастать после 7–8 дней созревания и к 56-суточному возрасту достигло $2{,}5 \cdot 10^5$ $г^{-1}$ (Terplan et al., 1986) [388]. В глубинных слоях, где pH значительно ниже, листерии не были обнаружены. Способность их расти в слизневых сырах зависит от штамма.

Во время выработки сыра Коттедж из инокулированного 10^4–10^5 клеток/мл *List. monocytogenes* молока количество листерий не менялось до начала отваривания, которое проводили при 57,2° С в течение 30 мин; после отваривания клетки листерий не выявлялись посевом продукта сразу после тепловой обработки, но обнаруживались после выдержки продукта при 3° С в течение 28 дней [918].

List. monocytogenes, инокулированная в молоко после пастеризации, во время производства рассольного сыра Фета дает около 4 генераций и сохраняет в нем жизнеспособность в течение более 90 дней даже при pH 4,3 после созревания [812]. Рост ее в сыре Фета, выработанном на закваске для йогурта, прекратился после снижения pH до 4,6.

List. monocytogenes размножалась в сыре Домиати, вырабатываемом из молока, содержащего 5–10% соли, и сохраняла в них жизнеспособность в течение 3-х недель [12].

Большая часть промышленных сыров, в которых обнаружена *List. monocytogenes*, выработана из сырого молока [388]. Исследования в США в рамках программы по безопасности молочных продуктов, позволяют считать случаи заболевания листериозом через сыры из пастеризованного молока результатом их загрязнения после пастеризации. Имеется мнение 6 европейских экспертов о минимальной опасности листерий в Голландских сырах, поскольку в них никогда не обнаруживали серотипы *List. monocytogenes*, вызывающие болезни людей [866].

Широкое распространение *List. monocytogenes* в природе, способность размножаться при низких температурах, высокая смертность при листериозах обусловливают огромную опасность *List. monocytogenes* для молочной промышленности, в частности для сыроделия. Особенно опасны в отношении заболеваний листериозами сыры, созревающие с участием поверхностной плесени и сырной слизи, высоким содержанием жира, защищающим клетки листерий от действия желудочного сока [216].

В России не зарегистрированы заболевания листериозом через молочные продукты. По-видимому, это обусловлено тем, что хранение сырого молока при низких температурах в течение 3–4 сут практически не применяется. Кроме этого, в России не разрешается производство молочных продуктов из сырого молока. Однако угроза, которую таит в себе *List. monocytogenes*, требует резкого улучшения гигиены производства молочных продуктов, строгого разграничения зон обработки сырого молока и производства продукта.

6.5. Маслянокислые бактерии и маслянокислое брожение

6.5.1. Общие свойства

Группа маслянокислых бактерий входит в род *Clostridium*. Это грамположительные подвижные палочки размером 0,3–2,0×3–9 мкм (в старых культурах могут образовываться клетки длиной до 15 мкм), образующие овальные или сферические споры, обычно раздувающие клетку; строгие анаэробы. Род *Clostidium* насчитывает до 100 видов, получающих энергию за счет анаэробного расщепления углеводов (сахаролитические виды), или белков (протеолитические виды), или углеводов и белков [1450]. Маслянокислые бактерии получают энергию только путем сбраживания углеводов и солей органических кислот с образованием в качестве основных продуктов масляной кислоты и большого количества газов по схеме:

$$C_6O_6H_{12} \rightarrow CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + 2H_2 \qquad (6.5)$$

Кроме масляной кислоты и газов образуют уксусную кислоту, спирты и некоторые другие побочные продукты, количество которых зависит от вида маслянокислых бактерий, состава среды и условий культивирования. Слабые протеолиты, желатин не разжижают. Дифференциальные характеристики наиболее важных для сыроделия видов маслянокислых бактерий приведены в табл. 6.14. Споры маслянокислых бактерий обычно занимают субтерминальное, очень редко центральное положение в клетке, клетки раздувают, придавая им форму челноков, размер спор – 1,0–1,2 мкм [1309]. В клетках часто видны большие гранулы.

В табл. 6.15 показан рост маслянокислых бактерий в лакмусовом молоке с 0,08% цистеина (цистеин добавляют в молоко для снижения окислительно-восстановительного потенциала до уровня, при котором могут начать рост строгие анаэробы) [1309]. В пастеризованном молоке окислительно-восстановительный потенциал обычно находится в пределах +(230–290) мВ [337], что выше уровня, при котором строгие анаэробы могут начать рост, составляющего в зависимости от вида маслянокислых бактерий от +100 до +150 мВ [1291, 1292, 1575]. По Носковой и Пек, *Cl. tyrobutyricum* после 14 ч инкубации дала заметный рост при парциальном давлении O_2 не выше 5 мм рт. столба, что ниже, чем для

всех других испытанных ими видов клостридий [1543]. В пастеризованном молоке в чистых культурах не размножаются (в лабораторных условиях при использовании большой посевной дозы вегетативных клеток маслянокислые бактерии могут начать рост в пастеризованном молоке, поскольку с инокулятом в молоко попадут и редуцирующие вещества). В процессе производства сыра растворенный в молоке кислород ассимилируется молочнокислыми бактериями, Eh сырной массы снижается до благоприятного для прорастания спор и размножения маслянокислых бактерий уровня. Для прорастания спор маслянокислых бактерий нужно значительное время даже в оптимальных условиях: обычно для начала активного роста при посеве спорами нужно не менее 2,5–3,0 сут. К этому времени в сыре создаются анаэробные условия, но практически полностью сбраживаются углеводы. Энергетическим сырьем для маслянокислых бактерий в сырах после сбраживания лактозы служат лактаты, которые сбраживаются ими с образованием масляной и уксусной кислот, CO_2 и H_2.

6.14. Дифференциальные характеристики некоторых видов маслянокислых бактерий [1309]

Показатели	*Clostridium*		
	butyricum	*tyrobutyricum*	*pasteurianum*
Размеры клеток, мкм: длина	4,0–1,5	2–15	3,5–6,0
диаметр	0,7–0,9	0,9–1,2	0,8–1,2
Образование: H_2S	–	В [1)]	–
нитритов из нитратов	+	–	–
Сбраживание: глюкозы	+	+	+
целлобиозы	+	–	–
галактозы	+	–	–
глицерина	М [2)]	М	+
лактозы	+	–	–
мальтозы	+	–	+
мелецитозы	–	–	+
мелибиозы	+	–	–
рафинозы	+	–	+
салицина	+	–	+
сахарозы	+	В	+
крахмала	+	–	–
Са лактата	М	+	М

[1)] В – реакция варьирует в зависимости от штамма.

[2)] М – ферментация медленная и очень незначительная.

В 1935 г. van Beynum & Pette высказали мысль, что только один вид маслянокислых бактерий, который они назвали *Clostridium tyrobu-*

tyricum («tyro» – сыр), может сбраживать лактаты, а следовательно, только этот вид может быть возбудителем маслянокислого брожения в сырах [81]. Американские исследователи Bryant & Burkey в 1956 г. показали, что эта способность присуща и *Cl. butyricum*, после чего в литературе широко распространилось мнение об идентичности *Cl. tyrobutyricum* и *Cl. butyricum*. Однако исследования А. Гудкова и Sharpe, а позднее и других исследователей показали, что, несмотря на способность всех представителей маслянокислых бактерий сбраживать в определенных условиях лактат кальция, *Cl. tyrobutyricum* является самостоятельным видом маслянокислых бактерий [398, 700, 1291]. От других видов он отличается наличием специфических антигенов, сбраживанием ограниченного количества углеводов (табл. 6.14), неспособностью расти в молоке даже с добавлением цистеина, сравнительно медленным ростом в питательных средах. Другие виды маслянокислых бактерий обладают абсолютной потребностью в биотине и отсутствием потребности в других витаминах, у *Cl. tyrobutyricum* биотин может быть заменен другими витаминами, большинство витаминов стимулирует его рост. Наиболее важным отличием этого вида является более выраженное сродство к лактатам, которые он ферментирует с достаточно высокой скоростью и в более широких границах pH и $A_в$, что и делает его *главным возбудителем маслянокислого брожения в сырах*. Для сбраживания лактатов маслянокислые бактерии на первых этапах нуждаются в ацетатах.

6.15. Рост маслянокислых бактерий в лакмусовом молоке с цистеином

Виды	Изменения в лакмусовом молоке
C. butyricum	Свертывание с бурным газообразованием через 18–72 часа. Некоторые штаммы после хранения молоко не свертывают, что свидетельствует о вырождении культуры. Сгусток не оседает и не растворяется
C. tyrobutyricum	Нет изменений, кроме восстановления лакмуса в нижней трети пробирки
C. pasteurianum	В первые сутки небольшое, быстро заканчивающееся газообразование или отсутствие видимых изменений. Сгусток не образуется

В сырах в виде спор обнаруживаются многие виды маслянокислых бактерий, но активно могут размножаться *Cl. tyrobutyricum* и в меньшей степени *Cl. butyricum* [1291]. *Cl. tyrobutyricum* следует рассматривать как вид, приспособившийся к молочнокислому брожению, которое обеспечивает его энергией и факторами роста и защищает от конкуренции со стороны других видов споровых анаэробов за счет низкого pH.

Маслянокислые бактерии до последнего времени считались непатогенными микроорганизмами; в последние годы выявлены штаммы *Cl. butyricum*, способные образовывать токсины [225].

6.5.2. Влияние внешних факторов на маслянокислые бактерии

Физиолого-биохимические свойства маслянокислых бактерий были подробно изучены в отделе микробиологии ВНИИМС (А. Гудков, Перфильев и др.).

Кислотность. Минимальные значения pH, при которых может происходить рост маслянокислых бактерий, при прочих оптимальных условиях в зависимости от штамма и вида равны 4,2–4,7 [1329]. На средах с глюкозой маслянокислые бактерии наиболее энергично размножались при pH 6,6–6,0, в средах с лактатом Са в присутствии ацетатов при pH 5,5–6,0 [1291, 1329, 1575]. Минимальный pH, при котором *Cl. tyrobutyricum* сбраживал лактаты, равняется 5,0 [1291], *Cl. butyricum* – 5,1–5,3 [560, 596]; остальные виды маслянокислых бактерий – 5,4–5,5 [563]. Оптимальный pH для образования и прорастания спор маслянокислых бактерий выше, чем для роста.



Перфильев Геннадий Дмитриевич род. 1948 г.

Нетоксигенный штамм *Cl. butyricum* рос при pH 4,2, токсигенный – при pH не ниже 5,2 [225].

На развитие *Cl. tyrobutyricum* оказывает влияние не только pH, но и содержание недиссоциированной молочной кислоты: в модифицированной сыворотке из-под сыра Гауда рост этого вида при 30° С был задержан на 40 сут при pH не выше 4,8 и концентрации молочной кислоты 2%, или при pH 5,1–5,2 и содержании молочной кислоты 4% [560].

При низких pH меняется характер метаболизма маслянокислых бактерий: они перестают образовывать или резко снижают объем образуемых бутирата и водорода, ограничиваясь образованием ацетата и CO_2 [1329]. Так, в опытах с выработкой сыра Чеддер в асептической ванне *Cl. tyrobutyricum* начал расти в некоторых опытных сырах, имеющих pH около 5,0, без следов газообразования [398, 1291]. В процессе роста этого вида pH сыров повысился до 5,3 (маслянокислые бактерии при сбраживании лактатов образуют одну молекулу бутирата из двух молекул лактата), а в опытных сырах, в которых не было признаков роста маслянокислых бактерий он остался без изменения. При ухудшении условий для роста маслянокислых бактерий, прежде всего подавляется их газообразующая способность. При снижении активности воды минимальный pH для размножения маслянокислых бактерий повышается.

Активность воды и содержание соли. Минимальные значения $A_в$ и максимальные концентрации соли, при которых происходит рост маслянокислых бактерий в средах с глюкозой, показаны в табл. 6.16 [1575]. Они зависят от штамма и вида маслянокислых бактерий.

***6.16. Влияние активности воды и концентрации соли на рост маслянокислых бактерий в питательных средах с глюкозой* [1575]**

Виды бактерий	Предельные значения	
	$A_в$	NaCl,%
Cl. tyrobutyricum	0,950–0,965	5,0–8,3
Cl. butyricum	0,955–0,980	4,0–7,5
Cl. pasteurianum	0,955–0,980	4,0–7,5

Чаще всего штаммы с высокой устойчивостью к $A_в$ встречались среди *Cl. tyrobutyricum*. Это очень важно для сыроделия, поскольку, в отличие от большинства возбудителей пищевых отравлений, маслянокислые бактерии размножаются в сырах после того, как соль начала распространяться по всей массе головки сыра, что снижает $A_в$ в глубинных слоях. Большинство штаммов *Cl. tyrobutyricum* прекращало рост в среде с 5%, штаммов другого вида – с 4% соли [1329].

Продукты метаболизма *Cl. tyrobutyricum* в большой степени зависят от $A_в$ среды (рис. 6.8): по мере увеличения концентрации соли снижается общее количество образуемых кислот, но количество масляной кислоты снижается намного быстрее, чем уксусной [1329]. Масляная кислота перестала образовываться в среде с 3,7% NaCl.



Рис. 6.8. *Влияние хлорида натрия на накопление биомассы (1), образование уксусной (2) и масляной (3) кислот* [1329]

Чувствительность к соли зависит от pH, состава среды [563]. В табл. 6.17 приведены предельные концентрации NaCl в печеночном бульоне для роста маслянокислых бактерий при 37° С в течение 4 сут [563]. Наибольшей устойчивостью к соли они обладали при pH 6,5, при pH 5,1–5,5, характерном для твердых сыров, устойчивость к NaCl снижается. Добавление в печеночный бульон 1% лактата натрия несколько увеличило чувствительность к соли *Cl. butyricum*, а у *Cl. tyrobutyricum* она возросла только при pH 5,0. При выдержке в течение 14 и 60 сут максимальные концентрации соли для *Cl. tyrobutyricum* и *Cl. butyricum* при 24° С и pH 5,5 равнялись соответственно 5,6 и 3,1%, при 37° С – 5,1 и 2,1%.

6.17. Предельные концентрации соли для роста маслянокислых бактерий в печеночном бульоне в зависимости от pH [563]

Вид бактерий	Концентрация соли, %, при pH				
	7,0	6,5	6,0	5,5	5,0
C. tyrobutyricum	5,1	5,8	5,1	4,1	2,1
C. butyricum	2,1	2,6	2,6	2,1	1,6

Температура. Влияние температуры на развитие маслянокислых бактерий в среде с глюкозой показано на рис 6.9 [1329]. Оптимальные температуры для *Cl. butyricum* и *Cl. pasteurianum* лежат в интервале 26–34° С, *Cl. tyrobutyricum* – 26–37° С, максимальные лежат в пределах 46° С. Для сыроделия большее значение имеет нижняя граница для роста маслянокислых бактерий: для *Cl. tyrobutyricum* она равнялась около 8° С, для двух других видов – (11–12)° С.

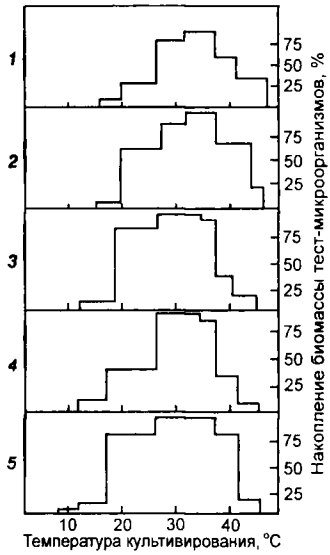


Рис.6.9. *Влияние температуры на рост клостридий:*
1 – Cl. perfringens;
2 – Cl. sporogenes;
3 – Cl. pasteurianum;
4 – Cl. butyricum;
5 – Cl. tyrobutyricum

Температура влияет на выход и скорость накопления биомассы: при 20° С *Cl. tyrobutyricum* достигала стационарной фазы в зависимости от штамма за 150–190 ч, а при температурах 30–37° С – за 95 ч (70–120 ч). Выход биомассы и скорость размножения маслянокислых бактерий резко снижались при температурах ниже 16° С, а для *Cl. tyrobutyricum* также наблюдается подобный скачок при переходе температуры через 12° С. При сбраживании лактата кальция *Cl. tyrobutyricum* быстрее растет при 22–24° С (А. Гудков, неопубликованные материалы). Споры *Cl. tyrobutyricum* отличаются невысокой термоустойчивостью: часть из них погибает при температурах выше 80° С. Для полного уничтожения их спор необходима выдержка при 120° С в течение 20 с, при 130° С – 4 с [1102].

Взаимоотношения с другими бактериями. Для сыроделия особенно важны взаимоотношения между маслянокислыми и молочнокислыми бактериями, поскольку в сырах маслянокислое брожение проходит на фоне молочнокислого брожения. При совместном развитии маслянокислых и молочнокислых бактерий на первом этапе молочнокислые бактерии, снижая Eh среды, создают условия для роста маслянокислых. Это продолжается до тех пор, пока pH в совместной культуре не снизится до уровня, при котором рост маслянокислых бактерий полностью подавляется. Поскольку молочнокислые бактерии при достаточно большом начальном количестве и наличии в среде необходимых количеств углеводов быстро смещают pH в незабуференных средах до уровня ниже предельного для роста маслянокислых бактерий, последние в кисломолочных продуктах не размножаются. Иное дело в твердых сырах, pH которых из-за ограниченного содержания лактозы и высокой буферности сырной массы, хотя и приближается к нижней границе для роста маслянокислых бактерий, но не пересекает ее (исключением являются сыры с высоким уровнем молочнокислого брожения, в которых иногда он опускается ниже этой границы – до 4,9).

Попадание в сыр спор маслянокислых бактерий (даже *Cl. tyrobutyricum*) еще не означает его неизбежную порчу в результате маслянокислого брожения, даже если сыр будет выработан по оптимальной с точки зрения формирования органолептических показателей технологии (при выработке сыров по такой технологии создаются наиболее благоприятные условия для развития маслянокислых бактерий, поэтому ее применяют при отсутствии в молоке опасных количеств спор этих микроорганизмов). Наиболее вероятной причиной этого является наличие в сырах среди микрофлоры закваски или «дикой» молочнокислой микрофлоры видов или штаммов, обладающих *специфическим антагонизмом* по отношению к маслянокислым бактериям [397, 398, 517, 1291, 1295, 1308, 1575].

Две группы лактобактерий обладают специфическим антагонизмом к клостридиям. Первую представляют штаммы молочного лактококка, образующие антибиотик низин [1483]. Низин – полипептид, оказывает бактерицидное действие на маслянокислые бактерии преимущественно в период после прорастания спор до начала активного размножения, а также на многие грамположительные бактерии, включая стафилококки и листерии [170]. Пока его не используют в производстве натуральных сыров, поскольку он угнетает развитие кислотообразующих бактерий закваски и тем самым создает условия для развития грамотрицательных бактерий, на которые не действует. Не нашли применения и заквaски из образующих низин лактококков, поскольку они обладают низкой кислотообразующей активностью и высокой чувствительностью к бактериофагу.

Пока в сыроделии низин используют только в производстве плавленых сыров. Однако ведутся работы по конструированию штаммов лактококков, продуцирующих низин и обладающих требуемой в сыро-

делии скоростью развития и кислотообразования в молоке и фагорезистентностью.

Специфический антагонизм других видов молочнокислых бактерий к маслянокислым бактериям обусловлен способностью связывать растворенный в среде кислород с образованием определенных количеств перекиси водорода и, возможно, других радикалов кислорода, токсичных для живых клеток. По-видимому, биологическая целесообразность ассимиляции кислорода молочнокислыми бактериями заключается в снижении Eh среды до требуемого для их активного роста уровня. Молочнокислые бактерии или связывают кислород с минимальным образованием токсичных веществ, или имеют системы защиты, позволяющие им успешно размножаться в присутствии в среде определенного количества перекиси водорода. Маслянокислые бактерии эффективной защиты от токсичных радикалов кислорода не имеют, что и определяет их высокую чувствительность к кислороду. Штаммы молочнокислых бактерий, образующие достаточно высокие концентрации токсичных продуктов ассимиляции O_2, ингибируют маслянокислые бактерии при совместном росте. Как правило, специфический антагонизм этого рода присущ видам и штаммам с невысокой кислотообразующей активностью. Наиболее часто специфические антагонистические свойства этого типа встречаются у мезофильных лактобацилл, в частности среди штаммов *Lbc. plantarum* [397, 398, 1295, 1308]. На рис 6.10 показано образование кислоты и H_2O_2 штаммами *Lbc. plantarum* (средние данные для нескольких штаммов) [1295].

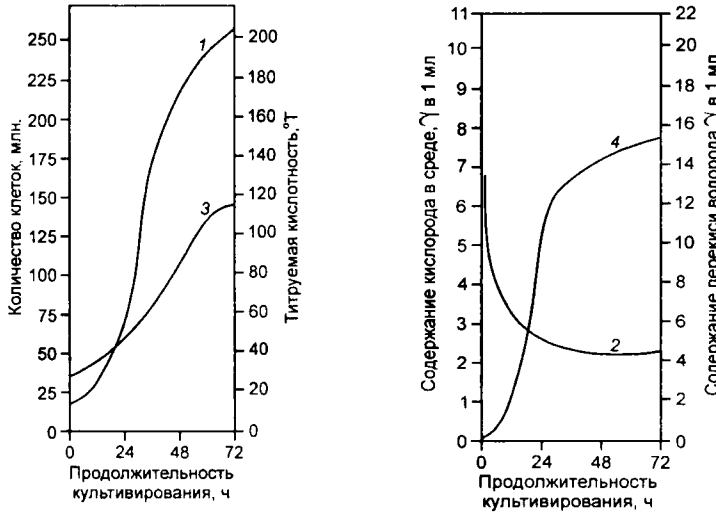


Рис. 6.10. *Образование кислоты и H_2O_2 Lbc. plantarum в молоке: 1 – количество клеток; 2 – содержание O_2; 3 – титруемая кислотность; 4 – содержание H_2O_2*

Особенно энергично перекись образовывалась в первые сутки роста. Все штаммы *Lbc. plantarum* образуют H_2O_2, но в разных количествах: к 48 ч культивирования, когда содержание перекиси в среде достигает максимума, 46,6% исследованных культур образовывали в среднем 2,01 мг/л (0,53–3,6) перекиси, 33,3% – около 12,3 мг/л (8,03–16,9), 13,8% – 28,6 мг/л и 6,8% – более 50 мг/л. Образование перекиси прекращается к началу стационарной фазы развития, что зависит от температуры культивирования: при 11–12° С оно продолжается 12 сут. После достижения максимума содержание перекиси начинает снижаться.

По влиянию на органолептические показатели сыра и скорости кислотообразования в молоке *Lbc. plantarum* может быть только дополнительным компонентом заквасок для сыра, основу которых должны составлять лактококки. Для того чтобы закваски, в состав которых включают штаммы *Lbc. plantarum* – антагонисты маслянокислых бактерий, образующие H_2O_2, – сохраняли требуемую активность, лактококки не должны ингибироваться теми концентрациями перекиси, которые образуют лактобациллы. На рис. 6.11 показана чувствительность к H_2O_2 лактококков и маслянокислых бактерий [1295]. Из рисунка видно, что концентрация H_2O_2, на 50% подавляющая рост маслянокислых бактерий, почти в два раза ниже ее концентрации, подавляющей на 50% рост молочного и диацетильного лактококков. Чувствительность к перекиси сливочного лактококка почти такая же, как маслянокислых бактерий, поэтому его нецелесообразно вводить в закваски вместе с лактобациллами – антагонистами маслянокислых бактерий. Таким образом, существует диапазон концентраций перекиси водорода, которые в большой степени ингибируют рост маслянокислых бактерий, оказывая незначительное действие на молочный и диацетильный лактококки.

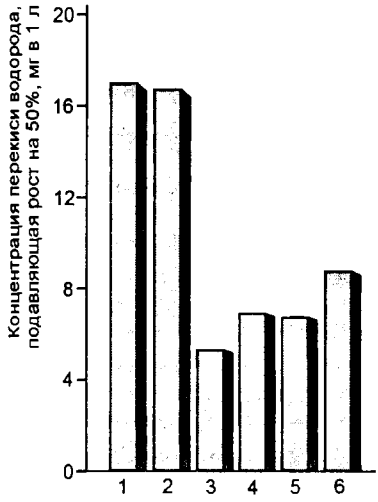


Рис. 6.11. *Диаграмма, показывающая отношение молочнокислых стрептококков и маслянокислых бактерий к перекиси водорода:*
1 – Lc. lactis;
2 – Lc. diacetylactis;
3 – Lc. cremoris;
4 – Cl. tyrobutyricum;
5 – Cl. pasteurianum;
6 – Cl. butyricum

На рис. 6.12 показан совместный рост маслянокислых бактерий и штаммов *Lbc. plantarum*, образующих в молоке различные количества H_2O_2 [1295]. Из рисунка видно, что все три проверенные штамма *Lbc. plantarum* оказывали ингибирующее действие на накопление биомассы маслянокислыми бактериями, степень ингибирования была различной – пропорционально количеству образуемой в среде штаммами лактобацилл H_2O_2 [1295]. Наибольшей антагонистической активностью обладал *Lbc. plantarum* 28, образующий в молоке около 9 мг/л перекиси. Он был использован в закваскаx, обладающих антагонистическим действием на маслянокислые бактерии. Рост *Cl. tyrobutyricum* в зависимости от штамма снижался на 50% в присутствии 2,7–8,8 мг/л H_2O_2 [1308].

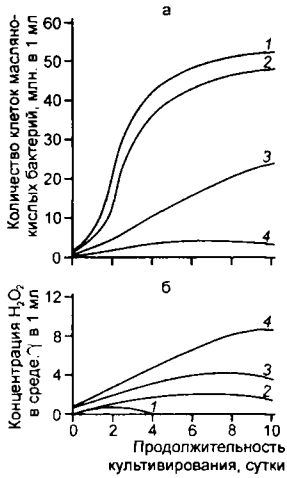


Рис. 6.12. *Количество клеток Cl. tyrobutyricum и содержание H_2O_2 в среде в совместных с Lbc. plantarum культурах:*
1 – Cl. tyrobutyricum;
2 – Cl. tyrobutyricum + Lbc. plantarum 214;
3 – Cl. tyrobutyricum + Lbc. plantarum 205;
4 – Cl. tyrobutyricum+Lbc. plantarum 28

Максимальные концентрации H_2O_2, образуемые в молоке лактококками, *Lbc. plantarum*, *Lbc. acidophilus*, *Lbc. lactis* и *Lbc. bulgaricus* в зависимости от штамма равнялись соответственно 1,02–6,46; 2,04– 70,04; 13,6–54,4; 14,96 и 10,88 мг/л [1308].

Некоторые штаммы молочного лактококка, *Lbc. casei*, *Lbc. plantarum*, *Lbc. fermentum*, *Lbc. lactis*, *Lbc. helveticus*, *Lbc. bulgaricus* и *Lbc. acidophilus*, термофильного стрептококка образуют бактериоцины, ингбирующие рост маслянокислых бактерий [74, 574, 589, 966, 1488]. Обычно антагонистическое действие этих веществ слишком низкое, чтобы подавить развитие клостридий в сырах с высокой температурой II нагревания [74].

Имеются материалы, свидетельствующие о стимулирующем действии на маслянокислые бактерии БГКП [334, 398, 1291]. В условиях, лимитирующих снижение pH, многие молочнокислые бактерии не подавляют, а стимулируют рост маслянокислых бактерий. Так, из числа проверенных штаммов термофильных молочнокислых палочек в среде, содержание энергетического материала в которой было рассчитано так, чтобы конечный pH ее равнялся 5,2–5,3, рост *Cl. tyrobutyricum* стимули-

ровали 74,95% штаммов *Lbc. helveticus*, 62,5% *Lbc. bulgaricus*, 60% *Lbc. lactis*; ни один из проверенных штаммов не обладал антагонизмом по отношению к этим микроорганизмам [1318]. В этих же условиях при изменении pH среды от 6,7 до 5,2 все испытанные штаммы лактококков, за исключением низинобразующих, стимулировали рост маслянокислых бактерий [1673]. Особенно сильное стимулирующее действие оказывали штаммы молочного лактококка. В совместных с лактококками культурах маслянокислые бактерии начинали вегетативный рост с самого начала культивирования. Рост маслянокислых бактерий стимулируют термофильный стрептококк и пропионовокислые бактерии [398].

6.5.3. Методы количественного учета

В молочной промышленности в течение многих лет для выявления в молоке спор маслянокислых бактерий применяли пробу Вейнцирля, предложенную в 1916 г. Суть ее состоит в том, что исследуемое молоко с кусочком парафина заливают в пробирки, прогревают для уничтожения вегетативных клеток микроорганизмов и выдерживают 3 сут при 30–37° С. Во время тепловой обработки парафин расплавляется, а после охлаждения снова затвердевает на поверхности молока, создавая анаэробные условия в пробирке. Свертывание молока с образованием газа, обусловленного сбраживанием лактозы, рассматривают как доказательство присутствия в исследуемом молоке спор маслянокислых бактерий. Проба привлекает своей простотой, но она обладает принципиальными недостатками. Проба выявляет споры бактерий, сбраживающие лактозу с образованием газов, но *Cl. tyrobutyricum* – основной возбудитель маслянокислого брожения в сырах – лактозу не сбраживает и в молоке не растет. Кроме маслянокислых бактерий, сбраживающих лактозу, этой пробой будут выявляться другие споровые бактерии, образующие газ на лактозе, например, *Clostridium perfringens*, которая очень часто обнаруживается в молоке, растет гораздо быстрее маслянокислых бактерий. Этот вид к порче натуральных сыров непричастен. На ней выявляются и некоторые споровые аэробы, поскольку Eh молока в пробирке остается достаточно высоким.

Проба Вейнцирля для выявления маслянокислых бактерий, сбраживающих лактаты, может быть улучшена путем подкисления молока молочной кислотой до pH 5,45, что обеспечит энергией *Cl. tyrobutyricum* и ограничит рост протеолитических видов споровых бактерий, включая *Cl. perfringens* [1180]. Для ускорения прорастания спор и развития маслянокислых бактерий в молоко следует добавлять цистеин в количестве 0,05–0,08% [1321].

Отличной средой для определения общего количества спор анаэробов является среда Тароцци с добавлением 0,5% глюкозы, однако ее трудно готовить. За рубежом для этой цели широко применяется среда RCM, предложенная в 1954 г. Hirsh & Grinsted, в состав которой входят (г/л): дрожжевой экстракт (сухой) – 3,0; мясной экстракт (сухой) – 10,0;

пептон – 10,0; растворимый крахмал – 1,0–1,5; декстроза – 5,0; цистеин – 0,5; ацетат натрия – 3,0; агар – 0,5 для жидкой и 15,0 для твердой среды [1321]. В нашей стране для этой цели используется среда для анаэробов (СДА), которая вначале представляла модификацию RCM, в которой мясопептоновая основа была заменена панкреатиновым гидролизатом молока [1308, 1321]. В дальнейшем были изменены условия гидролиза молока, что сократило время анализа и повысило выявляемость спор маслянокислых бактерий в молоке [1628, 1648].

Разведения исследуемого субстрата перед посевом на вышеприведенные среды для уничтожения вегетативных клеток прогревают (лучше при 75° С в течение 20 мин, так как при более высоких температурах погибает часть спор маслянокислых бактерий). Посевы непрогретых субстратов приведут к подавлению роста клостридий неспоровыми микроорганизмами, в частности молочнокислыми бактериями, которые прекрасно растут на этих средах и составляют большинство в молоке и сырах.

Для разработки элективных сред для выявления и количественного учета маслянокислых бактерий в молоке и сырах (спор и вегетативных клеток) была использована их способность ферментировать лактаты в присутствии ацетатов с образованием газов. В качестве источника азота был взят гидролизат казеина или мясопептонный бульон [1323]. В этой среде молочнокислые бактерии, составляющие большинство микрофлоры в сыре, и другие микроорганизмы, нуждающиеся для развития в анаэробных условиях в углеводах, расти не могут. Для подавления роста протеолитов, которые в небольших количествах могут быть в сырах, pH среды доводили молочной кислотой до 5,6–5,8. Показателями роста маслянокислых бактерий в этой среде (ЛАССА) являются газообразование, изменение окраски индикатора, в качестве которого взят нейтральрот, с красного до соломенно-желтого цвета. Среда была модифицирована и схема ее приготовления сейчас включает: ферментативное осаждение белков молока, промывку белкового сгустка водой для полного удаления лактозы, гидролиз полученного концентрата белков комплексом протеолитических энзимов и смешивание гидролизата с остальными компонентами [1648].

ЛАССА может быть использована без прогрева засеваемого материала для определения общего количества спор и вегетативных клеток маслянокислых бактерий, и с прогревом – для подсчета только их спор. После застывания засеянной среды в пробирках ее заливают слоем водного агара высотой 1–2 см. Перед посевом среды для выявления и количественного учета маслянокислых бактерий кипятят для удаления из них растворенного воздуха, посевной материал вносят на дно пробирки.

Разработаны методы иммунологического обнаружения вегетативных клеток *Cl. tyrobutyricum*, которые могут быть использованы при исследовании материалов, содержащих достаточно большое количество клеток этого вида [1180, 1011].

6.5.4. Источники заражения сыров

Основное место обитания маслянокислых бактерий – почва. *Cl. pasteurianum* живет в любой почве, чему способствуют простые питательные потребности этого вида. *Cl. tyrobutyricum* в почве обнаруживается реже и в меньших количествах. Основным источником *Cl. tyrobutyricum* в природе является силос; особенно их много в силосе плохого качества – их интенсивное размножение в силосе и является главной причиной снижения качества корма. Для характеристики силоса используют отношение [636]: $C_б/(C_б+C_м)$, где $C_б$, $C_м$ – концентрации масляной и молочной кислот в силосе. Если это отношение больше или равно 0,5, то силос называют «клостридиальным». Клостридиальные силосы содержат большое количество спор маслянокислых бактерий, и молоко от коров, которым его скармливают, как правило, непригодно для выработки сыров, чувствительных к маслянокислому брожению.

Благоприятные условия для размножения маслянокислых бактерий в силосе создаются в результате низкого содержания в силосуемой массе сухих веществ и водорастворимых углеводов, высокой температуры и $A_в$, медленного образования кислоты молочнокислыми бактериями и низкой конечной кислотности сырной массы. При силосовании необходимо обеспечивать достаточное размельчение и уплотнение силосуемой массы, быструю загрузку силосохранилищ и хорошее укрытие силоса, поскольку чем больше будет воздуха в силосуемой массе, тем интенсивнее будет размножаться посторонняя микрофлора, включая протеолитические и маслянокислые бактерии. Это обусловлено повышением расхода водорастворимых углеводов на дыхание растений, развитием посторонних бактерий, сопровождающимся повышением pH силоса, и увеличением температуры силосной массы, что стимулирует рост маслянокислых бактерий. В силосе, температура в котором не превышала 20° С, содержание спор маслянокислых бактерий было ниже, чем в силосе, созревающем при более высоких температурах [944].

При высокой влажности силосуемой массы необходимо ее подвяливание, так как маслянокислые бактерии перестают размножаться в силосе при более высокой активности воды (0,97), чем молочнокислые (0,94) [636].

При содержании в силосуемой массе в начальный период меньше 10^5 $г^{-1}$ молочнокислых бактерий необходимо вносить в силосуемую массу закваску молочнокислых бактерий [636]. Во ВНИИМС разработан простой и дешевый способ приготовления закваски для силосования кормов на сыворотке из сухого бактериального концентрата, который содержит лактококки и штаммы лактобацилл, обладающие специфическим антагонизмом к маслянокислым бактериям [1294]. При рекомендуемой дозе внесения закваски 1 л/т с закваской в силос вносят $(2–15)\cdot10^5$ $г^{-1}$ клеток молочнокислых бактерий в активной форме. Влияние закваски на микрофлору силоса показано на рис. 6.13 [1294]. Отсутствие в 7-суточном опытном силосе спор маслянокислых бактерий можно объяс-

нить тем, что имеющиеся в исходной массе споры в течение этого периода проросли, а новые не образовались из-за низкого pH, препятствующего споруляции [356]. Увеличение содержания спор маслянокислых бактерий в течение этого периода, очевидно, свидетельствовало бы об их прорастании (снижение содержания спор в первые дни с последующим вегетативным ростом и спорообразованием). Ингибирование роста посторонней микрофлоры микрофлорой закваски снижает потери питательных веществ, которые при спонтанном силосовании достигают 30–50% от их содержания в исходной массе.

При скармливании коровам силоса с применением закваски *Lbc. plantarum* у животных улучшалось состояние вымени, уменьшалась заболеваемость, улучшалась сычужная свертываемость молока по сравнению с соответствующими показателями коров, которым скармливали силос из этой же растительной массы, заготовленный без использования закваски [142].

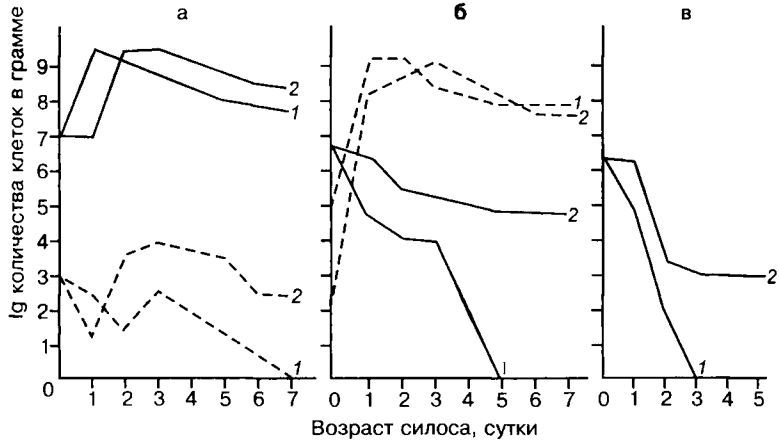


Рис. 6.13. *Влияние закваски на микробиологические процессы в силосе из горохо-овсяной смеси: 1 – с закваской; 2 – без закваски. а. Общее количество* (—) *и количество спор* (- - -) *маслянокислых бактерий. б. Количество протеолитических гнилостных бактерий* (—) *и молочнокислых палочек* (- - -). *в. Количество кишечных палочек.*

С точки зрения подавления развития маслянокислых бактерий в силосе более надежным методом является применение химических средств консервирования, которые снижают pH растительной массы сразу после срезания. В качестве химических консервантов обычно используют органические кислоты. Метод применяется в Финляндии, что позволяет вырабатывать высококачественный Эмментальский сыр при скармливании коровам силоса.

В Германии до 5% силоса закладывается с применением химических консервантов: при силосовании бобовых и других трудносилосуемых культур, зеленой массы, содержащей меньше 25% сухих веществ, применяют препараты муравьиной кислоты; при содержании в силосуемой массе 25–45% сухих веществ используют препараты пропионовой кислоты и ее солей [1081]. Стоимость препаратов в расчете на 1 т силоса: сахаросодержащих (применяются при недостатке в силосуемой массе водорастворимых углеводов) – 7–10 марок, на базе муравьиной кислоты – 4,2–11 марок, с пропионовой кислотой – 6,0–8,25 марок. Для сравнения скажем, что в середине 80-х стоимость закваски ВНИИМС составляла 4–6 коп./т силоса.

В Великобритании в продаже около 90 препаратов для силосования кормов, в т. ч. неорганические и органические кислоты, формальдегид, соли органических кислот, меласса, закваски, энзимы (целлюлаза, гемицеллюлаза), свекловичный жом, плющеный ячмень и др. [1165].

Источниками спор маслянокислых бактерий могут быть жом, тюки недостаточно высушенного сена и любые ферментированные корма, но они имеют региональное значение. В Швейцарии в последние годы резко увеличилось количество вспученных крупных сыров, что, как подозревают, связано с заготовкой сена, спрессованного в крупные тюки [986].

В хорошем силосе содержание спор маслянокислых бактерий должно быть ниже 1000 $г^{-1}$, в силосах низкого качества их содержание может достигать сотен тысяч и даже миллионов в 1 г [1575].

Из силоса споры маслянокислых бактерий попадают в молоко непосредственно с частицами корма или через навоз. Для того чтобы перекрыть первый путь, кормление коров силосом следует проводить не позднее, чем за четыре часа до дойки. Это правило не соблюдается при беспривязном содержании скота, при котором содержание спор маслянокислых бактерий в молоке выше, чем при стойловом содержании. При нарушении этого правила молоко уже в организме коровы может приобретать силосный запах.

Главным путем загрязнения молока спорами маслянокислых бактерий является переход их из силоса в навоз, в котором они не только длительное время сохраняют жизнеспособность, но могут прорасти и начать размножение [1575]. По данным финских исследователей, количество спор анаэробов в коровьем навозе варьирует в пределах 11–1600000 в 1 г, причем в 87% исследованных проб оно находилось на уровне 10^3 $г^{-1}$ [581]. Через навоз спорами маслянокислых бактерий загрязняется внешняя среда на молочных фермах, кожные покровы и вымя коров. Так, при обследовании 6 американских ферм споры *Cl. tyrobutyricum* были обнаружены во всех образцах, отобранных из окружающей среды [630]. При низком уровне гигиены на ферме споры из внешней среды обязательно попадут в молоко. Существует тесная корреляция между содержанием спор маслянокислых бактерий в силосе, навозе и молоке, между содержанием их в молоке и гигиеническими условиями получения молока на ферме [579, 630, 1142].

Нет единого мнения о критическом содержании спор маслянокислых бактерий в сыром молоке, превышение которого делает молоко несыропригодным. Это понятно, так как развитие маслянокислых бактерий в сырах в очень большой степени зависит от технологии их выработки и антагонистических свойств закваски, которые меняются не только в зависимости от вида сыра, но и от страны, в которой ее вырабатывают. Кроме этого, сильно варьируют методы определения количества спор анаэробов в молоке, что влияет на степень их выявляемости. В России для сыров с низкими температурами II нагревания считается пригодным молоко, содержащее не более 10 спор лактатферментирующих клостридий в 1 мл, для производства сыров с высокими температурами II нагревания – не более 1 споры/мл. Если для производства сыров используют закваски, обладающие специфическим антагонизмом к маслянокислым бактериям, предельное содержание спор лактатферментирующих клостридий в молоке увеличено соответственно до 25 и 2,5 спор/мл. В Нидерландах в молоке для выработки сыров должно быть не более 20 спор/мл маслянокислых бактерий при дозе нитратов 15 г/100 л [784]. Kutzner считает, что сыр Тильзит может быть вспучен при наличии в молоке 10 спор/мл *Cl. tyrobutyricum* [596]. Добавление в молоко 4 г/100 л нитрата в его опытах предупредило вспучивание сыра, выработанного из такого молока. По Kalzendorf, твердые сыры с низкой температурой II нагревания можно вырабатывать из молока, содержащего не более 6 спор/мл маслянокислых бактерий [520]. Teuber (1985) считает, что для порчи сыров типа Гауда, Эдам, Трапист достаточно 200 спор/л маслянокислых бактерий [579]. По Stadhouders, критическое содержание спор маслянокислых бактерий в молоке для производства твердых сыров равно 5–10 спор/л [1014], чего трудно достичь при кормлении коров силосом. В то же время австралийские исследователи наблюдали позднее вспучивание сыров Швейцарский и Гауда, выработанных зимой, когда 50% молока содержало не более одной споры маслянокислых бактерий в 5 мл. Некоторые авторы полагают, что 12-килограммовый сыр Гауда может быть вспучен при наличии в молоке 5–10 спор/л [579]. Грюйер и Эмменталь можно вырабатывать из молока, содержащего не более 0,04 споры/мл маслянокислых бактерий [1144]. По мнению швейцарских ученых, молоко, содержащее больше 140 спор/л *Cl. tyrobutyricum*, непригодно для выработки швейцарских сыров с высокими температурами II нагревания. Крупные сыры за рубежом, как правило, вырабатывают без добавления в молоко нитратов. В Швейцарии в производстве сыра не применяют химических средств для подавления маслянокислого брожения и даже применение бактофугирования вызывает протесты, как нарушение принципа натуральности сыра [986].

В табл. 6.18 приведены результаты опытов Перфильева, показывающие взаимосвязь между количеством лактатсбраживающих клостридий в смеси и качеством Голландского брускового сыра. Из них видно, что снижение качества сыра началось при наличии в смеси 2,5 спор/мл

маслянокислых бактерий. Это слишком высокое загрязнение молока маслянокислыми бактериями в сравнении с результатами опытов большинства зарубежных авторов, но более низкое, чем допускают инструкции по производству сыров этого класса в России. Несколько более высокая устойчивость к маслянокислому брожению отечественных твердых сыров обусловлена особенностями технологии, в частности высокой степенью посолки и повышенным содержанием органических кислот, пониженными температурами созревания [396].

***6.18. Влияние маслянокислых бактерий на качество Голландского сыра* (Перфильев, 1998)**

Содержание маслянокислых бактерий:		Оценка сыра в баллах			
спор в 1 г смеси	клеток в период макс., тыс./г	вкус и запах	консистенция	рисунок	общая
0,6	4	38,2	24,4	9,0	91,6
2,5–6,0	30	36,0	23,5	7,3	83–91
13–60	120	34,7	23,0	6,3	80–85
130–250	720	32,8	22,0	6,0	77–83

На рис. 6.14 показано влияние сезона на содержание спор анаэробов в молоке, поступившем на Угличский сыродельный завод [1407]. В летний период не было обнаружено молока, содержащего более 10 спор/мл анаэробов, что подчеркивает роль силоса в загрязнении молока спорами. Во время скармливания коровам силоса значительное количество образцов молока содержало не более одной споры в мл, что свидетельствует о возможности получения сыропригодного по содержанию спор анаэробов молока. Массовое обследование молока, поступившего в 1987–1988 гг. на сыродельные заводы европейской части бывшего СССР, показало, что 29% образцов содержало более 10 спор/мл лактатсбраживающих клостридий [1667]. В молоке, поступившем на три сыродельных завода Алтайского края в 1988 г., лактатферментирующие клостридии обнаружены в 67,3–31,8% образцов, в т. ч. в весенние месяцы на один из заводов поступило 91,4–100% такого молока [1219].

Количество спор в мл молока на одном заводе колебалось от 0,6–6,0 (48,1% образцов) до 25 (0,3%) [1219].

По данным Якубчак, в молоке высшего сорта по общей бактериальной обсемененности содержится 1–3 споры/мл анаэробов, II сорта – от 6 до 20 и более спор/мл [1774]. По данным Перфильева (1998), в сыром молоке, в среднем, содержалось в 1 мл 2,4 споры и $7{,}2 \cdot 10^2$ вегетативных клеток лактатсбраживающих клостридий.

В Нидерландах в январе-мае в 1973 и 1976 гг. 57 и 37% образцов молока соответственно содержали менее одной споры в 1 мл, 39 и 56% – 1–7 спор/мл, 4 и 7% – больше 7 спор/мл [1142]. По другим данным, в Нидерландах в летние месяцы содержание спор маслянокислых бактерий в молоке находится в пределах 2000–1000 $л^{-1}$, в зимние – 2000–20000 $л^{-1}$

[579]. Во Франции 43% стад, в которых коровам скармливали силос, давали молоко, содержащее более 2300 $л^{-1}$ спор маслянокислых бактерий [429]. В Италии в течение года на завод по производству сыра Пармезан-Реджиано поступило 25,38% молока с содержанием спор маслянокислых бактерий более 200 $л^{-1}$, в 5,72% – более 500 $л^{-1}$ [827].

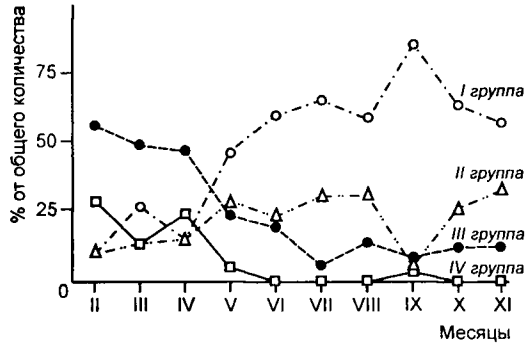


Рис. 6.14. *Содержание в молоке спор анаэробов по сезонам года: I – не содержит спор в 1 мл; II – 0–1 спор/мл; III – больше 1–10 спор/мл; IV – больше 10–100 спор/мл; V – больше 100 спор/мл* [1407].

Содержание спор маслянокислых бактерий при стойловом содержании коров с включением в рационы силоса выше, чем в пастбищный период [1142]. Содержание спор *Cl. tyrobutyricum* в молоке, получаемом в Германии на 7 молочных фермах, в период кормления коров силосом с ноября по март составило 13–17 $мл^{-1}$, в пастбищный период 0,6–2,3 $мл^{-1}$ [1478]. Особенно их много в октябре-ноябре и марте-апреле, что можно связать с более низким уровнем гигиены на молочных фермах в осеннюю и весеннюю распутицу. Содержание спор маслянокислых бактерий в силосе по мере его старения увеличивается, что, по-видимому, обусловлено повышением его pH из-за сбраживания части лактатов маслянокислыми бактериями [356].

Количество спор в молоке в очень большой степени зависит от гигиенических условий получения молока [126, 630]. Особенное значение имеет мойка вымени с последующей обсушкой полотенцем перед дойкой, регулярная уборка навоза и смена подстилки. После применения мойки вымени орошением с последующей обсушкой полотенцем содержание спор маслянокислых бактерий в молоке снизилось с 2,5 до 0,25 $мл^{-1}$ [944]. Использование для дезинфекции 1 %-ного раствора диасептола вместо 2 %-ного раствора NaOH снизило содержание в молоке спор анаэробов на 97,11%, энтерококков – на 98,58% [1255].

Коэффициент корреляции между количеством спор анаэробов в силосе и навозе равен 0,84, навозе и молоке – 0,94, силосе и молоке – 0,66 [1389].

6.5.5. Рост и роль в сырах

Маслянокислые бактерии – возбудители позднего вспучивания сыров, что подразумевает их размножение во второй половине созревания сыров. Это не совсем так, о чем свидетельствует динамика размножения маслянокислых бактерий, показанная в табл. 6.19 и 6.20 на примере сыров Костромской и Российский. Молоко для выработки сыров после пастризации инокулировали коллекционными штаммами маслянокислых бактерий из расчета примерно 250 спор/мл. В сырах после прессования концентрация спор маслянокислых бактерий во всех вариантах уменьшилась по сравнению с их концентрацией в смеси, в 2,3–19,2 раза, хотя она должна была увеличиться примерно в 10 раз даже без размножения маслянокислых бактерий, так как почти все споры из смеси переходят в сгусток [905]. Условия выработки сыра не могут вызвать гибель спор, они благоприятны для их прорастания, но проросшие споры теряют устойчивость к нагреванию и не выявляются при определении содержания спор в исследуемом субстрате. В это же время начинается вегетативный рост маслянокислых бактерий, поскольку в молоке после пастеризации вегетативные клетки маслянокислых бактерий отсутствовали, а в сырах после прессования насчитывалось в 1 г $(3–14)\cdot10^3$ клеток *Cl. tyrobutyricum*, $9\cdot10^3$ *Cl. butyricum* и $2{,}5\cdot10^3$ *Cl. pasteurianum*. Как и следовало ожидать, наиболее быстро размножался *Cl. tyrobutyricum*. Неожиданным оказалось более быстрое размножение маслянокислых бактерий в Российском сыре во время выработки, что, возможно, обусловлено более быстрым развитием в нем молочнокислых бактерий, которые на первом этапе своего развития стимулируют рост маслянокислых бактерий. Таким образом, во время выработки сыра маслянокислые бактерии, как и в лабораторных опытах, размножаются параллельно с молочнокислыми бактериями.

6.19. Изменение содержания Cl. tyrobutyricum в Костромском сыре (средние данные по 5 повторностям)

Показатели	Содержание в 1 г, мл					
	смесь	сыр в возрасте, сут				
		п/пресса	3-5	10-15	25-30	45
Споры	57	25	50	59	39	102
Вегетативные клетки	0	$3\cdot10^3$	$8\cdot10^5$	$6\cdot10^4$	$3\cdot10^5$	$9\cdot10^5$

В Российском сыре *Cl. tyrobutyricum* размножался до 10-суточного возраста, потом количество его жизнеспособных клеток начало уменьшаться, вначале медленно, затем быстро. Количество жизнеспособных клеток в этом сыре в период максимума было ниже, чем максимальное их количество в Костромском сыре, примерно в 16 раз, а в зрелом сыре – в 600 раз, что свидетельствует о более медленном развитии маслянокислых бактерий в Российском сыре во время созревания, и это закономерно, учитывая более высокую активную кислотность этого сыра.

6.20. Изменение содержания маслянокислых бактерий в Российском сыре

Субстрат	Содержание, тыс./г, мл					
	C. tyrobutyricum		*C. butyricum*		*C. pasteurianum*	
	спор	вегетатив. клеток	спор	вегетатив. клеток	спор	вегетатив. клеток
Смесь	0,190	0	0,140	0	0,25	0
Сыр: п/прессов.	0,040	14	0,009	6,5	0,013	2,5
3-суточный	0,250	16	0,480	16,0	0,015	1,3
10-суточный	0,016	57	0,120	30,0	0,060	1,3
30-суточный	0,084	53	0,066	41,0	0,025	1,5
75-суточный	0,128	5	0,074	8,0	–	–

Cl. butyricum размножался в Российском сыре только до 30-суточного возраста, после чего количество его клеток стало уменьшаться. В период максимума содержание жизнеспособных клеток этого вида было несколько ниже, чем максимальное количество клеток *Cl. tyrobutyricum*. *Cl. pasteurianum* размножался только во время выработки сыра. Никаких видимых признаков маслянокислого брожения в Российском сыре не было.

В Костромском сыре размножение маслянокислых бактерий прослеживалось до 5-суточного возраста, в сырах 10–15-суточного возраста содержание вегетативных клеток *Cl. tyrobutyricum* было ниже, чем в 3–5-суточных сырах. Оно снова начало возрастать в сырах, начиная с 25-суточного возраста. В 45-суточных сырах количество клеток *Cl. tyrobutyricum* было достаточно, чтобы вызвать дефекты в органолептических показателях Костромского сыра: в нем появился прогорклый, слегка салистый вкус, рваные глазки, белесый цвет теста, но вспучивания не было.

Результаты этого опыта и многочисленные последующие наблюдения за развитием маслянокислых бактерий свидетельствуют о трехфазности маслянокислого брожения в сырах: первая фаза – прорастание спор и вегетативный рост во время выработки и на первом этапе созревания сыра; вторая фаза – отсутствие размножения и даже снижение количества жизнеспособных клеток; третья фаза – возобновление роста. Продожительность и время наступления каждой фазы вариабельны, что обусловлено особенностями микробиологических и физико-химических процессов в различных сырах.

Наличие первой фазы вполне объяснимо, так как во время выработки и в начале созревания условия в сырной массе наиболее благоприятны для развития маслянокислых бактерий. Труднее объяснить существование второй фазы. Прекращение видимого размножения маслянокислых бактерий, означающее окончание первой фазы, может быть вызвано снижением pH сыра до близкого к нижней границе для их роста. В пользу этого говорит то, что первая фаза кончается, когда pH сы-

ров достигает минимального уровня. После этого pH сыров начинает медленно повышаться за счет протеолиза. Кроме этого, метаболизм маслянокислых бактерий, в частности сбраживание лактатов, может очень медленно продолжаться без деления клеток, в результате чего pH в ближайшем окружении клеток или колоний маслянокислых бактерий будет также медленно повышаться. Возникнет цепная реакция: маслянокислые бактерии медленно повышают pH, сбраживая лактаты, а повышение pH ускоряет сбраживание лактатов. При повышении pH до определенного уровня маслянокислые бактерии начнут размножаться в сыре с достаточно высокой скоростью, и начнется третья фаза. Одной из причин начала активного роста маслянокислых бактерий на третьем этапе может быть увеличение в сыре низкомолекулярных продуктов протеолиза, стимулирующих рост маслянокислых бактерий. Обычно интенсивность протеолиза во вспученных сырах выше, чем в доброкачественных, но это может быть и причиной, и следствием развития возбудителей вспучивания [1024]. Третья фаза заканчивается после достижения $A_в$ в центре головки сыра нижней границы для роста маслянокислых бактерий или продолжается до конца созревания.

Одной из причин прекращения роста маслянокислых бактерий на первом этапе созревания сыра может быть накопление лактококками в сырной массе специфических антибиотических веществ, но это маловероятно, учитывая очень слабое антибиотическое действие лактококков на маслянокислое брожение, за исключением низинообразующих штаммов, которые в составе заквасок не используются.

Первая фаза маслянокислого брожения всегда будет возникать в сырах, если в молоке есть споры маслянокислых бактерий. Об этом свидетельствует наличие небольших количеств масляной кислоты во всех сырах, даже при отсутствии видимых признаков маслянокислого брожения.

Второй фазы может не быть, если молочнокислое брожение идет слишком медленно и pH сыров не опускается до уровня ниже 5,4–5,5, а молоко содержит много спор *Cl. tyrobutyricum* или *Cl. butyricum*. В этом случае маслянокислые бактерии могут вызвать вспучивание сыров даже в 10–15-суточном возрасте за счет сбраживания лактатов и лактозы.

Третьей фазы маслянокислого брожения при наличии второй может не быть, если в молоке содержится небольшое количество спор маслянокислых бактерий (не более 10 спор/г), а pH сыров быстро снижается до 5,2–5,3, или ниже (в соответствии с видом вырабатываемого сыра), и содержание соли в водной фазе центральных слоев головки сыра через 25–30 сут превысит 4,1%, т. е. предельный уровень для роста маслянокислых бактерий при pH сыра (табл. 6.17). В этом случае метаболизм маслянокислых бактерий может быть полностью подавлен или же находиться на низком уровне, недостаточном для повышения pH сыра до требуемой для активного размножения маслянокислых бактерий величины. Чем быстрее pH сыра снижается до 5,3, чем ниже сте-

пень загрязнения сыра маслянокислыми бактериями и короче срок созревания сыра, тем больше вероятность того, что третья фаза развития маслянокислых бактерий не наступит и сыр не приобретет дефектов, вызываемых маслянокислыми бактериями.

Данные, приведенные в табл. 6.19 и 6.20, свидетельствуют о том, что в сырах маслянокислые бактерии или не образовывали спор, или образовывали их в незначительных количествах, что может быть обусловлено низким pH сырной массы. Следовательно, оценивать размножение маслянокислых бактерий в сыре по содержанию только спор маслянокислых бактерий, как это обычно делают, нельзя. Более точным критерием в этом случае является содержание масляной кислоты в сыре. О решающем влиянии скорости молочнокислого брожения на развитие маслянокислых бактерий в Российском сыре свидетельствуют результаты опыта, представленные на рис. 6.15 [1580]. Молоко в опыте после пастеризации инокулировали спорами маслянокислых бактерий в количестве 25–250 спор/мл. В этом сыре pH после прессования должен быть равен 5,15–5,25; pH сыров в 15-суточном возрасте выше 5,3 свидетельствует о низкой скорости молочнокислого брожения. В сырах с таким pH количество клеток маслянокислых бактерий приблизилось к критическому уровню (~$2{,}5 \cdot 10^5$ $г^{-1}$) или его превысило. Таким образом, даже при небольшом снижении активности молочнокислого брожения и высоком обсеменении молока спорами маслянокислые бактерии могут вызвать порчу достаточно стойкого к маслянокислому брожению Российского сыра.

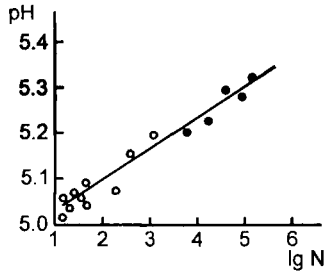


Рис. 6.15 *Интенсивность развития Cl. tyrobutyricum в Российском сыре в зависимости от уровня активной кислотности (данные для 15-суточного сыра)*

Развитие маслянокислых бактерий в сыре в значительной степени зависит от состава микрофлоры закваски. На рис. 6.16 показано содержание маслянокислых бактерий в Костромском сыре, выработанном с традиционной (К) и содержащей штаммы молочнокислых бактерий со специфическим антагонистическим действием на клостридии (О), закваской [1308].

В К-сыре содержание маслянокислых бактерий равнялось примерно 10^6 $г^{-1}$, т. е. превысило критический уровень, в О-сыре оно равнялось $3 \cdot 10^3$ $г^{-1}$ или было ниже этого уровня. Результаты органолептической оценки (средние по 6 повторностям) приведены в табл. 6.21. Степень выраженности пороков сыра зависела от количества вегетативных клеток маслянокислых бактерий в период максимума. Они выражаются в

появлении прогоркло-слащавого вкуса, мажущейся консистенции, белесой окраски сырного теста, рваного, броженого рисунка, переходящего во вспучивание головок. Признаки маслянокислого брожения появляются при содержании в сыре примерно $2 \cdot 10^5$ $г^{-1}$ клеток маслянокислых бактерий, вспучивание наступает, когда их количество достигнет нескольких млн./г. Выше указывалось, что размножение маслянокислых бактерий может происходить без видимого газообразования. Таким образом, спектр пороков сыра, вызываемых маслянокислыми бактериями, достаточно широк и не ограничивается поздним вспучиванием.

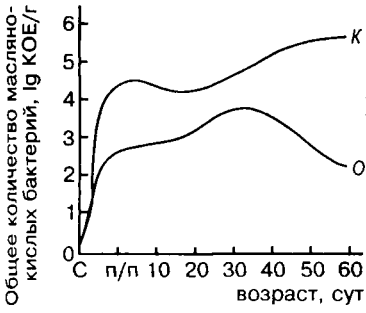


Рис. 6.16. *Развитие маслянокислых бактерий в Костромском сыре, выработанном с традиционной (К) и антагонистической (О) заквасками: С – смесь после пастеризации; п/п – сыр после прессования*

6.21. Оценка качества сыров с традиционной (К) и антагонистической (О) заквасками [1308]

Показатели	Оценка в баллах	
	К	О
Вкус и запах	34,5–36,5	38–40
Консистенция	23–25	25
Рисунок	6–8	7–9
Общий балл	85–87	90–94

6.5.6. Методы предотвращения маслянокислого брожения в сырах

Маслянокислые бактерии являются наиболее опасными возбудителями порчи твердых сыров по следующим причинам:

- обсеменение молока спорами маслянокислых бактерий происходит за пределами молочного завода, и сыроделы имеют ограниченные возможности его предотвращения;
- пастеризация молока не уничтожает бактериальные споры;
- комплекс факторов, обусловливающий неспецифический антагонизм молочнокислых бактерий заквасок (конкуренция за лактозу, создание анаэробных условий), не всегда предотвращает развитие маслянокислых бактерий до опасного для качества сыра уровня;
- маслянокислые бактерии, сбраживающие лактаты, обеспечены энергией на протяжении всего периода созревания сыров.

Силос и гигиена получения молока. Меры профилактики маслянокислого брожения в сырах должны проводиться по нескольким направлениям. Содержание в молоке спор лактатферментирующих клостридий должно нормироваться, и оплата за молоко должна проводиться с учетом их содержания. Эта мера должна стимулировать качество силосования и соблюдение гигиенических условий получения молока. Необходимо разъяснять производителям молока, что предупреждение маслянокислого брожения в силосе – это не только повышение сыропригодности молока, но и увеличение кормовой ценности и качества корма. Крайней мерой служит запрещение скармливания коровам силоса в зоне производства крупных сыров, что практикуется в Швейцарии, Баварских Альпах, некоторых областях Франции [579]. Полностью предупредить развитие маслянокислых бактерий в силосе, как и в сыре, невозможно, поэтому в молоке при скармливании коровам силоса всегда будет какое-то количество спор маслянокислых бактерий.

Вторая группа мер по профилактике маслянокислого брожения в сырах направлена на удаление спор из молока, к числу которых относятся бактофугирование и микрофильтрация.

Бактофугирование. Бактофугирование заключается в использовании центробежной силы для удаления из молока бактериальных клеток и спор [70]. Молоко бактофугируют после фильтрования и тепловой обработки при температурах 55–65° С; количество удаленных клеток микроорганизмов в молоке до и после бактофугирования по сравнению с исходным (%) равнялось соответственно: общее количество 78 и 98; БГКП – 76 и 99; псевдомонад – 96 и 98; термостойких бактерий 29 и 67; споровых анаэробов 50 и 91 [515]. Бактофугированием можно удалить из молока до 93% (чаще 65–80%) спор и 80–90% общего количества микроорганизмов [76, 108, 65]. Часть авторов считает, что однократное бактофугирование удаляет из молока 97,4–98,8% спор маслянокислых бактерий, что, по-видимому, сильно завышено; в любом случае этого недостаточно для предотвращения маслянокислого брожения, и в период высокого обсеменения молока спорами нужно проводить или двухкратное бактофугирование, или в бактофугированное молоко добавлять нитраты [70, 76, 1144]. Kalzendorf считает, что бактофугирование может быть альтернативой нитратам, если содержание спор маслянокислых бактерий в молоке не больше 6 спор/мл [520].

В результате двукратного бактофугирования в молоке снижается содержание жира на 0,2%, белка на 0,17%, Са – на 8%, фосфора – на 2,2%, что уменьшает выход сыра и приводит к появлению мажущейся консистенции [76, 150, 1152]. Во избежание этого шлам в сепараторе после бактофугирования, содержащий 2% белка, стерилизуют и вновь вносят в бактофугированную смесь для выработки сыра [70]. Однако немецкий Институт гигиены молока не рекомендует использовать осадок для пищевых целей, поскольку в нем концентрируются липосахариды, к которым принадлежат эндотоксины [1082]. Количество липосаха-

ридов в осадке составляет 162–912 нг/мл. В то же время в бактофугате содержание липосахаридов снижается на 80%, что повышает гигиенические свойства молока [1060]. Исключение осадка из переработки может снизить выход сыра на 6% [150].

Микрофильтрация. Фирмой «Альфа-Лаваль» разработана система бактериальной очистки молока Bactocatch [15, 579, 722, 733, 742]. В соответствии с этой системой молоко нагревают до 35–50° С и сепарируют. Обезжиренное молоко нагревают до 48° С и подвергают микрофильтрации с использованием керамических мембран с диаметром пор 0,1–10 мкм [65]. Молоко по отношению к мембране подают тангенциально, что обеспечивает одинаковое давление на всю площадь мембраны. Bactocatch удаляет из молока 99,0–99,9% клеток микроорганизмов. Микрофильтрат, объем которого около 90% от объема исходного молока, представляет собой обезжиренное молоко с очень низкой бактериальной обсемененностью. Перед переработкой на сыр его смешивают со стерилизованными сливками. Стойкость при хранении молока после микрофильтрации возрастает до 14 дней без потери исходных вкусовых и других органолептических свойств. Ретентат обезжиренного молока можно стерилизовать и использовать для выработки сыра, но предпочтительнее его использовать на корм скоту. Этот метод иногда называют холодной стерилизацией. Споры маслянокислых бактерий, листерии и сальмонеллы с помощью этой системы почти полностью удаляются из молока [701, 733, 742]. Потери казеина при обработке молока микрофильтрацией не превышают 1% [722]. Созданы установки со скоростью потока 550 л/м^2/ч и продолжительностью непрерывной работы между мойками 8–10 ч.

6.22. Стоимость обработки молока с целью предупреждения маслянокислого брожения в сырах различными методами [372, 733]

Метод	Стоимость SEK/кг сыра
Нитраты, 15 г/100 кг молока	0,04
Лизоцим, 2 г/100 кг молока	0,20–0,30
Бактофугирование	0,06–0,10
Микрофильтрация	0,16

По результатам опытов египетских ученых, микрофильтрация снижает общую бактериальную обсемененность обезжиренного молока на 96%, не оказывает заметного влияния на содержание в нем сухих веществ, общего белка, небелкового азота, лактозы, Са, на время сычужного свертывания и плотность сычужного сгустка [701]. Они делают вывод о возможности использования микрофильтрованного молока в сыроделии вместо подвергнутого тепловой обработке.

В табл. 6.22 показаны затраты на обработку различными методами молока для предупреждения маслянокислого брожения в сыре. Стои-

мость микрофильтрации ниже стоимости обработки лизоцимом и близка к комплексной обработке: бактофугирование + $NaNO_3$. Важным преимуществом микрофильтрации перед другими методами является то, что она не предусматривает внесение каких-либо веществ в молоко, это особенно ценится органами здравоохранения и потребителями.

Перекисно-каталазная обработка молока. Третья группа мер по предотвращению маслянокислого брожения в сырах заключается во внесении в молоко химических веществ, предотвращающих размножение маслянокислых бактерий. Эти вещества не должны ухудшать показатели безопасности и реализации сыра, иметь доступную стоимость, не оказывать мутагенного действия на микрофлору сыра. В практике сыроделия более или менее широкое применение нашли перекисно-каталазная обработка молока, селитра, лизоцим, формалин.

Перекисно-каталазная обработка молока (ПКО) заключается в следующем. В молоко температурой 32–34° С вносят 0,02–0,03% H_2O_2 и выдерживают при этой температуре 40 мин с постоянным перемешиванием в течение первых 20 мин. После этого в молоко вносят раствор каталазы в количестве, достаточном для полного разрушения остатков перекиси в течение 15–17 мин при 33° С. Разрушение перекиси необходимо для предотвращения ее ингибирующего действия на микрофлору закваски.

Качество сыров Костромской и Голландский, вырабатываемых из молока с высоким содержанием спор маслянокислых бактерий, при ПКО пастеризованного молока улучшилось, а при замене пастеризации молока этой обработкой осталось на одинаковом уровне [1536, 1716, 1758]. Обычно ПКО используют при выработке сыров с высокой температурой II нагревания. Чехословацкие ученые сравнили 72 образца крупных сыров, выработанных с ПКО, с сырами из этого же молока, но подвергнутого только пастеризации [1284]. Они сделали вывод, что ПКО снижает содержание в сыре спор, выявляемых пробой Вейнцирля, только в том случае, если их содержание в исходном молоке было не выше 25 спор/мл. Все опытные сыры имели более мягкую и пластичную консистенцию, что отмечали и Шергин с соавт. [1758]. Есть мнение, что эффективность ПКО обработки молока для предупреждения развития маслянокислых бактерий в сыре недостаточна [1232].

Обработка молока перекисью в концентрации 0,01–0,02% повышала активность молочнокислых бактерий и сычужного энзима, снижала продолжительность сычужного свертывания, улучшала синеретические свойства сгустка; увеличение концентрации H_2O_2 до 0,03–0,25 приводило к обратным результатам [1357, 1605].

При температуре 34° С ПКО (0,03% H_2O_2) подавляет прорастание в вегетативные клетки 66,7% спор маслянокислых бактерий, повышение температуры обработки до 47° С увеличивает количество необратимо инактивированных спор через 15 мин в 10, через 30 мин – в 100 раз [1605].

Общее содержание азота в сырах из молока с ПКО было на 6,7% ниже, чем в сырах из пастеризованного молока. Тем не менее Шергин с

соавт. отмечают повышение выхода сыра при использовании ПКО молока, что обусловлено более высоким содержанием в них влаги [1758]. Заметно изменялся протеолиз в сырах из молока, подвергнутого ПКО, что Ali et al. объясняют действием перекиси на распределение электронов на пептидных связях [17].

Неясен механизм действия H_2O_2 на развитие маслянокислых бактерий в сыре, поскольку в применяемых концентрациях она не уничтожает споры. Возможно, в результате перекисно-каталазной обработки в молоке разрушается какой-то фактор роста маслянокислых бактерий, например, биотин. В большинстве стран перекисно-каталазная обработка молока не разрешена, хотя и без каких-либо оснований. Перекисно-каталазная обработка молока в нашей стране разрешена как дополнение к пастеризации молока. ПКО малоэффективна с точки зрения дезактивации бактериофагов [1305], что делает невозможным замену ею пастеризации молока.

Нитраты. Нитраты издавна (более 160 лет) вносят в молоко для производства твердых сыров с целью предотвращения раннего и позднего вспучивания. Раннее вспучивание чаще всего вызывается БГКП, образующими во время выработки и в начале созревания большие количества CO_2 и H_2. Главную роль во вспучивании играет водород, плохо растворимый в сыре. Ингибирующее действие на кишечную палочку и маслянокислые бактерии оказывают не сами нитраты, а образующиеся при их восстановлении в сыре нитриты. Нитриты препятствуют формированию H_2-лиазы, принимающей участие в образовании водорода из лактозы через формиаты в анаэробных условиях, и индуцируют образование формиатдегидрогеназа/нитрат редуцирующей системы (Ruiz & De Mossl, 1972) [1147]. Образующиеся под действием этой системы нитриты, в свою очередь, индуцируют формирование дегидрогеназа/нитрит редуцирующей системы (Abou-Jaoude et al., 1977) [1147]. Нитраты и нитриты действуют как терминальные акцепторы водорода и используются для бактериального роста и синтеза аммиака. Таким образом, в результате внесения в молоко нитратов и восстановления их в нитриты БГКП размножаются в сыре без образования водорода, что предотвращает раннее вспучивание сыров этими бактериями, но не появление дефектов вкуса и консистенции (Galesloot & Hassings, 1983) [1147].

На маслянокислые бактерии также действуют нитриты, а не нитраты. В чистых культурах маслянокислых бактерий нитраты не восстанавливаются до нитритов, и на рост бактерий нитраты не влияют [334, 335]. Однако в молоко следует вводить нитраты, а не нитриты, с таким расчетом, чтобы нитриты постепенно образовывались в сыре. Внесение большого количества нитритов в молоко приведет к ингибированию молочнокислых бактерий.

В сырах нитраты восстанавливаются до нитритов под действием ксантиноксидазы молока, часть активности которой сохраняется после

пастеризации (72° С, 15 с), или в результате жизнедеятельности БГКП. Нитриты не действуют на споры, но сильно замедляют их прорастание. Механизм действия нитритов на прорастание спор не выяснен [1147]. Начиная с определенного возраста, содержание нитритов в сырах снижается, но к этому времени на маслянокислые бактерии начинает действовать поваренная соль, успевающая более или менее равномерно распределиться в пределах головки сыра. Следует учесть, что для прорастания спор нужна более высокая активность воды, чем для вегетативного роста [335].

До недавнего времени считалось, что при скармливании коровам силоса гарантировать выпуск качественного сыра без нитратов или равноценных им ингибиторов маслянокислых бактерий не представляется возможным [1012, 1131]. Роль нитратов возросла после установления их ингибиторного действия на *Listeria monocytogenes* – возбудителя пищевых листериозов [320]. В большинстве европейских стран разрешено применять нитраты при выработке твердых сыров в дозе до 20 г на 100 л молока, в России – до 30 г на 100 л. В крупных сырах за рубежом их не применяют, поскольку они ингибируют рост пропионовокислых бактерий и могут образовывать в сырах красные пятна при развитии некоторых лактобацил, вызывать бледную окраску сырной массы, горький вкус. Добавление в молоко 0,02% нитратов замедляет энзиматическое свертывание молока, но внесение в молоко 0,015% $CaCl_2$ восстанавливает скорость свертывания молока в присутствии нитратов [1734]. Внесение в молоко нитратов несколько замедляет скорость размножения и выход биомассы молочнокислых бактерий, причем степень ингибирования роста молочнокислых бактерий неодинакова в сырах различных видов [1572]. Ниже приведены уравнения регрессии для скорости размножения молочнокислых бактерий (Y_1, час$^{-1}$) и максимальной плотности их популяции (Y_2, млрд./г) в Костромском сыре в зависимости от дозы добавленных в молоко нитратов (X). Минимальным эффективным уровнем является 8,5 г/100 л при небольшом содержании спор в молоке [1232].

$$Y_1 = 0{,}26 - 1{,}89\,X \qquad (6.6);$$

$$Y_2 = 1{,}65 - 28{,}0\,X \qquad (6.7).$$

На рис. 6.17 показано изменение содержания нитратов и нитритов в сыре Гауда во время его созревания [371], в табл. 6.23 – в Российском и Голландском сырах [1694]. Нитраты хорошо растворимы в воде, поэтому большая их часть остается в сыворотке. Наиболее интенсивно восстановление нитратов в нитриты происходит в начале созревания, когда микробиологические процессы идут наиболее интенсивно и условия для прорастания спор маслянокислых бактерий наиболее благоприятны. Максимального уровня содержание нитритов в сыре Гауда достигло в зависимости от дозы нитратов к 6–12-недельному возрасту, затем начало снижаться. К этому времени соль в сырах успевает распределиться по всей массе головки сыров, и $A_в$ снижается до уровня, который при

соответствующей посолке может быть достаточным для предупреждения прорастания спор маслянокислых бактерий. Полное подавление развития маслянокислых бактерий в сырах голландской группы достигалось при совместном действии нитратов (0,02% на 100 кг молока) и 3,8% соли в сухом веществе (2,2–2,3% в сыре); при более низком содержании соли рост маслянокислых бактерий ингибировался в степени, пропорциональной интенсивности посолки [335].

В период максимума количество нитрит-ионов в сырах, выработанных из молока с внесением 60, 40 и 10 г нитратов на 100 л, равнялось соответственно 2,4; 1,4 и 0,8 мг/кг.

В опытах Munksgaard с внесением в сыр меченого по азоту нитрата установлено, что в 16-недельных сырах сохранялось 13–55% добавленного нитрата; 15% его было вымыто во время посолки, минимум 20% выделилось в виде NO_2 и N_2, 9% находилось в виде аммиака, часть меченого азота находилась в сыре в виде других форм небелкового азота, а также в белках и липидах [757].

6.23. Содержание нитратов и нитритов в Российском и Голландском сырах

Возраст сыра, сут	Доза нитратов, г/100 л			
	30		10	
	Содержание, мг/кг			
	NO_3^-	NO_2^-	NO_3^-	NO_2^-
Сыр Российский				
0	99,3	0,00	32,1	0,00
120	60,8	0,56	10,8	0,44
Сыр Голландский I				
0	111,1	0,00	35,5	0,00
120	21,4	0,37	4,2	0,09
Сыр Голландский II				
0	118,9	0,0	41,6	0,00
120	0,0	0,2	0,0	0,17

На скорость восстановления нитратов и нитритов в сырах огромное влияние оказывает содержание посторонней микрофлоры, особенно БГКП [334, 335]. Чем выше содержание в сырах колиформ, тем быстрее восстанавливаются эти соединения. На рис. 6.17 приведено изменение содержания нитратов и нитритов в сыре Гауда без кишечных палочек. При наличии в сырах более 10^5 $г^{-1}$ клеток БГКП нитраты и нитриты очень быстро исчезают, что полностью ликвидирует ингибиторное действие добавленных к молоку нитратов на возбудителей вспучивания сыров [1147]. Более того, при массивном загрязнении сыров БГКП внесение в молоко нитратов может стимулировать их рост. Это, по-видимому, является главной причиной вариабельности скорости транс-

формации нитратов и нитритов в сырах. Голландский сыр в опытах Тетеревой с соавт. по скорости трансформации нитратов был разбит на две группы: к 120-суточному возрасту в сырах второй группы нитраты не были обнаружены, в сырах первой группы их оставалось от 12 до 18% [1694]. Сыры этих групп отличались по содержанию кишечных палочек.

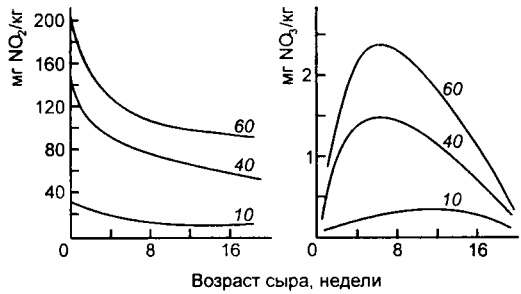


Рис. 6.17. *Содержание нитратов и нитритов в сыре Гауда, выработанном из пастеризованного молока (76 °С, 5 с), во время созревания при 13 °С. (Цифры около кривых – количество нитратов, добавленное к молоку, г/100 л) (Goodhead et al., 1976)* [1147]

Скорость трансформации нитратов и нитритов зависит от вида сыра: в Российском сыре она значительно ниже, чем в Голландском (к 120-суточному возрасту в Российском сыре сохранилось 33,6–61% исходных нитратов). Это можно объяснить тем, что в Российском сыре из-за высокого уровня молочнокислого брожения быстрее подавляется развитие посторонних бактерий. При выработке польского сыра Журав, Гауда и Эдам из молока, содержащего от 0,01 до 0,02% KNO_3, во время прессования и посолки восстановилось больше 80% нитратов в сыре Журав и только 20–30% в двух других сырах [977]. Повышение температуры созревания ускоряло восстановление нитратов [431].

При внесении в молоко 20 мг/100 кг нитрата натрия содержание ионов нитратов в зрелых сырах составило: Коттедж – 0,55 мг/кг; Швейцарском – 0,8 мг/кг; Тильзитском – 1,7 мг/кг; сыре Трапист – 0,77 мг/кг [1690].

Нитраты являются эффективным средством борьбы со вспучиванием сыров. Добавление в молоко 15 г нитратов или 2,5 г лизоцима на 100 л молока, содержащего 10 спор/мл маслянокислых бактерий, увеличило выход сыра Эдам на 10 и 2,55% соответственно, снизило содержание уксусной и масляной кислот, полностью подавило образование пропионовой кислоты, придающей нетипичный вкус этому сыру; оценка за качество была у 50% сыров с нитратами немного выше, чем у сыров с лизоцимом, у остальных сыров – одинаковой [272]. В сыре Гауда нитраты также были более эффективны, чем лизоцим.

Нитраты целесообразно вносить не в молоко, а в смесь сырного зерна и сыворотки после удаления ее большей части, с тем чтобы снизить расход нитратов и получать больше сыворотки с малым количест-

вом нитратов, которые снижают ее кормовую ценность (в сыворотке, в отличие от сыра, восстановление нитратов и нитритов может идти медленно) [1147, 1232].

Содержание нитратов и нитритов в сырах, вырабатываемых с добавлением нитратов в молоко, должно расцениваться с двух позиций:

- восстановление нитратов в нитриты с умеренной скоростью – необходимое условие для проявления ингибирующего действия нитратов на возбудителей вспучивания сыров; при отсутствии восстановления нитратов в нитриты или при высокой его скорости нитраты защитной функции в сырах не проявляют;
- нитраты и нитриты в определенных дозах токсичны, поэтому они должны трансформироваться в сырах с такой скоростью, чтобы в зрелом сыре количество нитратов и нитритов не превышало устанавливаемые органами здравоохранения нормы, гарантирующие безопасность сыра для здоровья.

Скорость трансформации нитратов в сыре трудно регулировать, поэтому количество нитратов, вносимое в молоко, должно быть нормировано. Гигиенические аспекты применения нитратов в сырах изложены в гл. 12.

Лизоцим. Лизоцим – 1,4-β-N-ацетилмурамидаза (E.C.3.2.1.17.) – энзим, разрывающий глюкозидную связь между N-ацетилмураминовой кислотой и N-ацетилглюкозамином в пептидогликанах – главных компонентах клеточных стенок грамположительных бактерий, что изменяет проницаемость клеточной стенки и вызывает гибель клеток. Это является принципиальным отличием механизма действия лизоцима и нитратов. Последние при действии на БГКП не убивают клетки, а только блокируют образование ими H_2. Лизоцим может оказывать и неэнзиматическое действие на бактерии, нейтрализуя многие отрицательно заряженные группы мембран бактериальных клеток [1033]. Впервые предложен для предотвращения маслянокислого брожения в сырах в форме яичного белка Pulay & Krasz в концентрации 80–160 ед/мл [853, 1153].

Лизоцим термостабилен: нагревание при 90° С в течение 10 мин не снижает его активности [166]. 80–99% лизоцима связывается казеином и переходит в сыр; во время созревания сыра он не разрушается. Вегетативные клетки могут приобретать устойчивость к лизоциму, споры – нет. Лизоцим растворяют в холодной воде и вносят в молоко перед внесением молокосвертывающих ферментов. Коммерческие препараты лизоцима обычно содержат 20000 ед/мг.

Важнейшим условием применения лизоцима является устойчивость молочнокислых бактерий к тем его концентрациям, которые достаточны для уничтожения маслянокислых бактерий. Кинетические характеристики лизиса клеток лактококков в молоке и в бульоне из гидролизованного молока, маслянокислых бактерий в жидкой и агаризованной СДА изучили Шергин и др. (табл. 6.24) [1757]. Результаты этого опыта показывают, что чувствительность к лизоциму зависит от вида и штамма маслянокислых бактерий. Наиболее устойчивым оказался *Cl. pas-*

teurianum, но по другим свойствам он не представляет опасности для сыров. Скорость лизиса клеток *Cl. butyricum* была в 11,6 раза выше, чем *Cl. tyrobutyricum*. Однако, V_m для двух испытанных штаммов *Cl. butyricum* тоже отличались между собой примерно в 10 раз. V_m лактококков была в 100–800 раз ниже, чем *Cl. tyrobutyricum*. По Wasserfall, лизоцим в концентрации 10 мкг при 15° С лизирует клеточные стенки *Cl. butyricum*, а на молочнокислые бактерии не действует в концентрации 1 г/л [1153], что согласуется с результатами опытов Шергина с соавт. В концентрациях, используемых в сыроделии, лизоцим не действует на пропионовокислые бактерии [656].

6.24. Константы лизиса клеток молочнокислых и маслянокислых бактерий лизоцимом [1757]

Виды микроорганизмов	V_m, ед. опт. пл./с	$K_{ткаж}$, млн. кл./мл	$K_{кат}$, ед. опт. пл. л/гс
C. tyrobutyricum	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	260	$1{,}25 \cdot 10^{-3}$
C. butyricum	$1{,}4 \cdot 10^{-3}$	840	$2{,}05 \cdot 10^{-3}$
C. pasteurianum	$3{,}5 \cdot 10^{-5}$	51	$3{,}50 \cdot 10^{-4}$
Lc. lactis	$1{,}4 \cdot 10^{-6}$	220	$1{,}40 \cdot 10^{-5}$
Lc. diacetylactis	$4{,}9 \cdot 10^{-6}$	11250	$3{,}95 \cdot 10^{-5}$
L. cremoris	$8{,}6 \cdot 10^{-6}$	1005	$8{,}60 \cdot 10^{-5}$

Примечания: V_m – максимальная скорость; $K_{ткаж}$ – кажущаяся константа Михаэлиса; $K_{кат}$ – каталитическая константа

Эффективность действия лизоцима в сильной степени зависит от содержания спор маслянокислых бактерий, о чем свидетельствует уравнение регрессии, выведенное Шергиным с соавт. на примере *Cl. butyricum* [1757]:

$$Y = -3{,}5 + 0{,}78\,X_1 - 0{,}012\,X_1 X_2 + 0{,}000041\,X_1 X_2^2, \qquad (6.8),$$

где Y – количество колоний, выросших в 10 мл твердой СДА, X_1 – число спор в 1 мл СДА, X_2 – концентрация лизоцима, мкг/мл СДА.

Это уравнение позволяет рассчитать требуемую концентрацию лизоцима, зная степень обсеменения среды спорами маслянокислых бактерий. Однако, эффективность действия лизоцима зависит не только от количества спор, но и от состава и свойств среды. В молоке и агаризованных средах она была ниже, чем в бульоне [1757]. Эффективность применения лизоцима может снизиться при появлении в сыре устойчивых к нему клеток маслянокислых бактерий [656].

В бюллетене ММФ приведены данные о применении лизоцима в ряде стран [166]. В ФРГ вырабатывали Эдам и Тильзит из молока, содержащего 20 спор/мл маслянокислых бактерий. Лизоцим в концентрации 500 мкг/кг дал такие же результаты, как селитра: сыры не вспучивались в течение 5–9 мес, тогда как контрольные сыры вспучились через 5 недель при 12–13° С.

В Италии в молоко для выработки сыров Грана, Падано, Проволоне, Азиаго и Монтацио вносили 25 мг/л лизоцима (около 300 мкг/кг в сыре). Получены хорошие результаты, если содержание в молоке спор маслянокислых бактерий не превышало сотен клеток/л. Итальянские специалисты отмечают некоторое снижение скорости нарастания кислотности в сырах, вырабатываемых с применением лизоцима. Однако, по Lodi et al., 20–25 мг/кг лизоцима подавляли прорастание спор клостридий, но не влияли на рост и метаболизм 7 штаммов лактобацилл и 5 штаммов лактококков [656]. В присутствии лизоцима, по их мнению, вспучивание сыров могут вызвать пропионовокислые бактерии. Из естественных заквасок (сывороточных или молочных) можно выделить штаммы *Lbc. helveticus* и термофильного стрептококка, обладающие высокой устойчивостью к лизоциму [149].

В опытах Bottazzi из молока коров, в рационы которых входил кукурузный силос, вырабатывали сыры Грана с добавлением формальдегида, лизоцима, лизоцима с формальдегидом [108]. После 13 мес созревания при 16° С к сырам высшего качества отнесены 64,3% сыров с лизоцимом + формальдегидом, 19% сыров с одним лизоцимом и 2% сыров с формальдегидом.

В Дании для выработки сыра Данбо в молоко вносили 1–2 г/100 л (400–800 ед/мл) лизоцима, что дало такой же эффект, как добавление 10 г/100 л нитратов [96]. Однако, Walstra et al. считают, что в сыре Гауда 500 ед/мл лизоцима менее эффективны, чем нитраты [1147].

В Нидерландах установлено, что добавление в молоко 500 ед/мл лизоцима предотвращает позднее вспучивание сыров, если содержание спор в исходном молоке не превышает 0,3/мл; двойное количество лизоцима предотвращает вспучивание сыров при содержании в молоке 13 спор/мл, правда, размеры глазков при этом крупнее, чем в сырах, вырабатываемых из молока с низким содержанием спор. Ингибирования молочнокислого брожения не наблюдали при внесении в молоко 2 г/100 л лизоцима. В то же время в Австрии наблюдали ингибирование молочнокислого брожения при внесении в 1 л молока 100 мкг лизоцима. Таким образом, результаты наблюдений за действием лизоцима на молочнокислые бактерии весьма противоречивы.

Во Франции разрешено применять лизоцим в дозе до 30 мг/л или 400 ед/г в сыре. Применение лизоцима увеличило количество Эмментальского сыра класса А на 12,8% и снизило выработку сыров класса D на 17,5%.

Лизоцим ингибирует рост не только маслянокислых, но и других вредных для сыроделия микроорганизмов: 10 мкг/мл лизоцима ингибировали рост *Staph. aureus* на 56%, *B. cereus* – на 77,7%, кишечной палочки – на 56,5%, *Salm. typhi* – на 45,4%, *Sh. dysenteriae* – на 19,2%, протея – на 63,1%, *Ps. aeruginosa* – на 60,2% [161].

Лизис маслянокислых бактерий в культуре с содержанием 10^7 клеток/мл был максимальным при pH 5,5–6,4; старые культуры были зна-

чительно устойчивее к лизоциму по сравнению с молодыми. Если 200 частей/млн. лизоцима лизировали более 99% клеток в молодой культуре, то в 4-дневной – 77% [150].

Внесение в молоко лизоцима снижает содержание в сыре масляной кислоты на 42–44% и повышает содержание пропионовой кислоты на 170–200%, что увеличивает отношение пропионовой к масляной кислоте в 5–10 раз, делает вкус сыров чистым и хорошо выраженным [723]. В отличие от нитратов лизоцим можно применять в крупных сырах.

Таким образом, лизоцим является эффективным средством подавления роста маслянокислых бактерий в сырах и ингибирования развития других вредных для сыроделия микроорганизмов. Однако этот способ достаточно дорогой, в частности, он дороже нитратов в 5–7,5 раз (табл. 6.22).

Формальдегид, гексаметилентетраамин. В Италии формальдегид (0,002–0,0045)% применяют для ограничения развития микрофлоры при частичном обезжиривании молока путем отстаивания сливок и предотвращения маслянокислого брожения в сырах Грана и Проволоне [655, 1232]. При подснятии молока для выработки сыра улучшается соотношение между белком и молочным жиром и со сливками удаляется 85–95% спор *Cl. tyrobutyricum* [42]. Для определения спектра действия формальдегида на вредную и необходимую для сыроделия микрофлору в молоке испытывали следующие концентрации формальдегида: 0,005; 0,01; 0,015 и 0,02% [672]. Тест-культурами были *Lc. lactis*, *Str. termophilus*, *Ent. faecalis*, *Salm. typhimurium*, *Staph. aureus*, *B. cereus*. Оказалось, что молочнокислые бактерии наиболее чуствительны к формальдегиду и ингибировались самой низкой его концентрацией из числа испытанных. В предыдущем разделе приведены результаты испытаний нитратов, лизоцима и формальдегида в сыре Грана, которые показывают ничтожную эффективность формальдегида в предотвращении маслянокислого брожения по сравнению с первыми двумя факторами [108]. Формальдегид в концентрации 0,001–0,002% вызывает очень быстрое прорастание спор маслянокислых бактерий, что, по-видимому, вызывает гибель части проросших спор во время выработки сыров с высокими температурами II нагревания [1217], в результате чего несколько ингибируется маслянокислое брожение, но эффект этот небольшой. Эти опыты и исследования Lodi свидетельствуют о бесперспективности формальдегида для регулирования микробиологических процессов в сырах [108, 655, 1232]. Применение формальдегида в сыроделии не разрешается в большинстве стран, хотя в сырах в конце созревания обнаруживается только около 1% внесенного в молоко формальдегида [1232]. Формальдегид может ингибировать пропионовокислое брожение в крупных сырах.

В Италии для предотвращения вспучивания сыра Проволоне применяют гексаметилентетраамин (уротропин) [109, 851]. Он оказывает ингибиторное действие на маслянокислые и молочнокислые бактерии [851]. Уротропин добавляют в воду, используемую для пластификации

(плавления) сырной массы, когда молочнокислые бактерии уже выполнили свою функцию. В России нет разрешения на использование уротропина в сыроделии.

Биологические методы. Биологические методы основаны на использовании в бактериальных закваскаx видов и штаммов молочнокислых бактерий, обладающих специфической антагонистической активностью по отношению к возбудителям маслянокислого брожения в сырах. Они были разработаны и впервые широко использованы в промышленности в России в конце 60-х годов (А. Гудков, Перфильев, Хандак и др.) [1295]. При их использовании в сыры не вносится ничего инородного, поскольку антагонисты маслянокислых бактерий являются представителями микрофлоры, всегда присутствующей в сырах, где для них есть экологические ниши. Задача состоит в том, чтобы заполнить эти ниши не «дикой» молочнокислой микрофлорой, а специально отобранными штаммами, обладающими наиболее ценными для сыроделия свойствами. Они подробно рассмотрены в гл. 3 и 5.

Технологические факторы. Технологические режимы производства сыра разработаны для получения продукта высшего качества из молока, удовлетворяющего всем требованиям сыроделия. Однако не всегда эти требования, особенно в отношении предотвращения обсеменения молока спорами маслянокислых бактерий, удается соблюсти. При этом о превышении содержания в молоке спор допускаемого уровня сыродел узнает после того, как молоко уже переработано в сыр. Поэтому в периоды наиболее массивного обсеменения молока спорами маслянокислых бактерий технологию чувствительных к маслянокислому брожению сыров можно несколько изменить в направлении повышения резистентности сыра к его возбудителям.

Выше показано наличие трех этапов маслянокислого брожения в сырах. На первом этапе, заканчивающемся достижением pH сыра минимального уровня, происходит прорастание спор и размножение маслянокислых бактерий. Оно прекращается, когда pH сыра достигнет нижней границы для роста маслянокислых бактерий на лактатах как единственном источнике энергии (5,0–5,3). Прорастание спор заканчивается при более высоком pH (рис. 6.18) [1720]. Из рис. 6. 18 видно, что споры *Cl. tyrobutyricum* прекращают прорастание при pH 5,3 даже при отсутствии в среде соли, нитратов и оптимальной температуре для роста. В присутствии 20 мкг/мл нитритов они перестают прорастать при pH 6,2.

На первом этапе закладывается база маслянокислого брожения в сыре: чем больше прорастет спор, тем больше будет центров маслянокислого брожения на следующем этапе. Продолжительность первого этапа и выход вегетативных клеток будут прежде всего зависеть от скорости молочнокислого брожения. *Быстрое снижение pH до установленного уровня – необходимое условие для предотвращения маслянокислого брожения в сыре.*

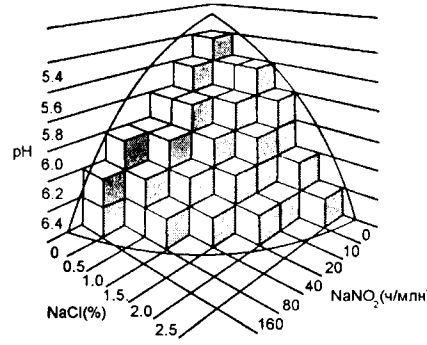


Рис. 6.18. *Споростатическое действие $NaNO_2$, NaCl и pH на споры Cl. tyrobutyricum после нагрева при 80° С в течение 10 мин* [1720]

Верхний предел скорости молочнокислого брожения и нарастания активной кислотности сыра определяется ее влиянием на физико-химические процессы в сгустке и сыре (гл. 2). Таким образом, основной технологический фактор профилактики развития в сырах вредной микрофлоры – высокая активность молочнокислого брожения – является общим для всех представителей посторонней микрофлоры. Меры по обеспечению требуемой активности молочнокислого брожения включают исключение из переработки на сыр и другие ферментированные продукты молока с ингибиторами, созревание молока, соблюдение правил приготовления и применения заквасок, защиту заквасок от бактериофагов, соблюдение температурных режимов выработки сыров, правильный выбор дозы закваски и др. Они изложены в соответствующих разделах. Здесь следует остановиться на одном приеме: весной, когда опасность маслянокислого брожения в сырах максимальна, активность лактококковых заквасок может быть низкой. В этом случае в дополнение к лактококковой закваске в молоко можно вносить до 1% закваски штаммов *Lbc. plantarum* с низкой скоростью кислотообразования или 0,1–0,05% *Lbc. helveticus*, которые стимулируют рост лактококков.

Прорастание спор и вегетативный рост маслянокислых бактерий зависит не только от pH, но и от содержания в сырной массе недиссоциированных кислот [563]. Количество кислот в сыре можно регулировать разбавлением сыворотки водой, но делать это следует осторожно, чтобы обеспечить pH сыра в период минимума не ниже установленного для данного сыра уровня.

Вторым фактором неспецифического ингибирования в этот период может явиться температура. При активном молочнокислом процессе в сыре во время выработки и опасности вспучивания сыра температуру рассола можно понизить до 6–7° С. Это ускорит остывание сыра до температур, подавляющих прорастание спор и значительно ингибирующих размножение маслянокислых бактерий. При достаточно актив-

ном молочнокислом процессе во время выработки и прессования сыров снижение температуры рассола не принесет заметного вреда сбраживанию лактозы микрофлорой закваски. По мнению итальянских ученых, выдержка сыра Монтацио (сыр со средними температурами II нагревания) в течение первых 15–30 сут при 5° С достаточна для предупреждения вспучивания [481, 482]. Однако выдержка сыра при 5° С в начале созревания замедляет его.

На первом этапе наиболее активно проявляются специфические антагонистические свойства микрофлоры заквасок и нитратов. Многолетнее использование в промышленности заквасок, обладающих в добавление к неспецифическому специфическим антагонистическим действием на маслянокислые бактерии, показало высокую эффективность их применения в период кормления коров силосом.

Для усиления действия нитритов пастеризацию молока следует проводить при наиболее мягком режиме (72° С, 15 с), с тем чтобы обеспечить максимально возможное сохранение активности ксантиноксидазы. Иногда вносят в молоко препараты ксантиноксидазы [966].

На втором этапе прорастание спор и размножение маслянокислых бактерий в твердых сырах прекращается. На этом этапе продолжается действие нитритов, содержание которых при нормальном ходе восстановления нитратов к 4-недельному возрасту достигает максимума, затем начинает снижаться. Достаточно интенсивно размножаются мезофильные лактобациллы, штаммы которых применяют в антагонистических заквасках. По нашему предположению, вегетативные клетки маслянокислых бактерий в этот период продолжают обмен веществ с сырной массой, в частности, очень медленно сбраживают лактаты, повышая таким образом pH среды около клетки. Кроме этого, pH повышается в результате протеолиза. Повышение pH, снижение интенсивности роста лактобацилл и постепенное восстановление нитритов улучшает условия для развития маслянокислых бактерий. Усушка сыра, постепенное проникновение соли в глубинные слои снижает активность воды и ухудшает условия для роста маслянокислых бактерий. Если второй этап закончится до того, когда активность воды в центре головки достигнет нижней границы для роста маслянокислых бактерий, то начнется третий этап их развития, характеризуемый быстрым сбраживанием лактатов и повышением pH сырной массы. При достаточно продолжительном созревании сыр вспухнет и будет пригоден только для кормления свиней. Следовательно, встает задача продлить второй этап и обеспечить к его окончанию такую концентрацию соли по всей головке сыра, которая достаточна для подавления маслянокислого брожения. При pH 5,5 и прочих оптимальных условиях маслянокислые бактерии перестают размножаться при наличии в среде не менее 4,1% соли (табл. 6.16 и 6.17). Такая концентрация соли в водной фазе сыра с содержанием 45% влаги соответствует около 2% соли в зрелом сыре. Berg et al. считают, что содержание соли не должно быть ниже 3,8% в сухом веществе [69]. Такие

показатели слишком высоки для твердых сыров с высокой температурой II нагревания, поскольку они ингибируют развитие пропионовокислых бактерий, но для сыров с низкой температурой II нагревания они приемлемы. Для более быстрого распределения соли по всей массе головки рекомендуется вносить часть соли в зерно: для сыров с правильным рисунком в зерно вносят 300 г соли /100 л молока, для сыров с пустотным рисунком типа Российского – 700–800 г/100 л. Полную посолку сыров в зерне проводить нельзя, так как это резко увеличивает опасность стафилококковых пищевых отравлений. Повышенной устойчивостью к соли обладают также листерии. Показательно, что вспученные сыры чаще всего отличаются от доброкачественных повышенным содержанием влаги и пониженным – соли [1024].

Для ограничения роста маслянокислых бактерий температуру созревания мелких твердых сыров часто снижают до 10–12° С, что близко к минимальной. Безусловно, снижение температуры замедлит созревание и уменьшит степень выраженности сырного вкуса, но при высокой опасности позднего вспучивания сыров из двух зол выбирают меньшее.

Альтернативой коррекции технологии в период кормления коров силосом является переход на выработку другого сыра с достаточно высокой устойчивостью к маслянокислому брожению. В России таким сыром является Российский. Однако это справедливо при высокой активности молочнокислого процесса во время его выработки и прессования. Критерием достаточной активности молочнокислого процесса является pH этого сыра после прессования, который должен находиться в интервале 5,15–5,25.

6.6. Протеолитические виды споровых анаэробов

К роду *Clostridium* принадлежат несколько видов, представляющих интерес для пищевой промышленности как возбудители порчи продуктов и пищевых отравлений: *Cl. sporogenes*, *Cl. perfringens*, *Cl. botulinum* и др. Эти виды могут получать энергию за счет углеводов и протеолиза.

Cl. sporogenes довольно широко распространен в природе и часто выделяется из молочных продуктов. А. Гудковым было выделено из молока и сыров 34 штамма этого вида, в т. ч. 18 – из твердых сыров, 7 – из плавленых и 9 – из молока [1291, 1309]. В твердых сырах *Cl. sporogenes* присутствовал в виде спор, и каких-либо следов его размножения не было. По-видимому, главной причиной отсутствия размножения *Cl. sporogenes* в твердых сырах является высокая чувствительность этого вида к pH (нижняя граница ~ 5,5), температуре (нижняя граница для размножения 13–15° С) и соли (в среде с 4% соли в среде рост ингибировался на 90%) [1329]. Тем не менее в литературе описан порок сыра под названием «белая гниль», характеризуемый белым цветом сырного теста и неприятным запахом (Dorner, 1942). Порок этот иногда встречается в крупных сырах, имеющих ненормально высокий pH (5,8–6,0) [1057,

1291]. Из споровых анаэробов *Cl. sporogenes*, наряду с *Cl. tyrobutyricum*, наиболее часто вызывает порчу в плавленых сырах.

Cl. botulinum может использовать как источники энергии углеводы и продукты протеолиза. Считается, что pH продукта, делающий невозможным развитие в нем этого вида, должен быть ниже 4,6, активность воды – ниже 0,95. *Cl. botulinum* тип E может расти при 5° C [810]. С точки зрения устойчивости к внешним факторам, за исключением специфического антагонизма молочнокислых бактерий, этот вид может размножаться в твердых сырах на всем протяжении созревания. Тем не менее случаев ботулизма, связанных с натуральными сырами, до недавнего времени в литературе не описывалось. Тот факт, что ботулизм был вызван употреблением в пищу плавленого сыра, упакованного под вакуумом (Meyer & Eddie, 1951), сырных спредов (Kosikowski, 1977), говорит в пользу того, что натуральные сыры защищены от ботулизма молочнокислыми бактериями [398]. В 1974 г. появились сообщения о вспышке ботулизма в Швейцарии и Франции, охватившей 48 и 38 человек соответственно. Вспышка вызвана потреблением одной и той же партии сыра Бри, который созревал более продолжительное время, чем нужно, при высокой окружающей температуре и отсутствии охлаждения. Таким образом, этот случай отравления можно рассматривать как исключение из правил. В описанных условиях pH сыров, созревающих с участием сырной слизи, может быть очень высоким.

Из споровых анаэробов *Cl. perfringens* чаще всего вызывает пищевые отравления, но ни одного доказанного случая отравления, вызванного размножением в сырах этого вида, не описано.

6.7. Психротрофные микроорганизмы

Психротрофы – микроорганизмы, которые при температуре 6,5° C и ниже дают рост в благоприятных для их развития средах при инкубации в течение до 10 сут. Из них выделяют психрофилы, оптимальная температура для роста которых – не выше 15° C, максимальная – не выше 20° C. Психрофилы обитают в специфических экологических нишах, где температура не поднимается выше 20° C, например, в глубине морей и океанов; они не играют никакой роли в сыроделии. Собственно психротрофы имеют максимальную температуру для роста выше 20° C, оптимальную – выше 15° C.

Психротрофы широко распространены в природе: в воде, почве, сточных водах. Широкое внедрение холодильного хранения делает психротрофы одной из основных групп микрофлоры сырого молока, что, наряду с уникальными свойствами многих психротрофов, определяет их огромное значение для сыроделия.

На молочные фермы психротрофы попадают главным образом с водой. На большинстве ферм имеется оборудование для охлаждения и хранения охлажденного молока. В охлажденном молоке психротрофы

размножаются без особой конкуренции со стороны других сапрофитов и при нарушениях правил гигиены распространяются по всей ферме. По Моисеевой, доля психротрофов в микрофлоре свежевыдоенного молока составила при высоком уровне гигиены на фермах – 10%, при низком – до 75% [1524]. Содержание психротрофов в молоке с фермы, где оно не охлаждалось и через 1–2 ч после дойки направлялось на молочный завод, равнялось в среднем $47 \cdot 10^3$ (7–87 тыс.) КОЕ/мл или 19,6% от общего количества микроорганизмов [1463, 1465]. В то же время, в молоке, которое на ферме хранили при 9–10° С и дважды в сутки отправляли на завод, их количество составило $1{,}85 \cdot 10^6$ (от 1,6 до $2{,}3 \cdot 10^6$) КОЕ/мл или 45,7% от общего количества бактерий. По неопубликованным данным Перфильева (1998), содержание психротрофов в 31 партии молока, поступившего в 1993–1994 гг. в экспериментальный цех ВНИИМС, составило в среднем $4{,}8 \cdot 10^6$ (от $4 \cdot 10^3$ до $1{,}2 \cdot 10^7$ КОЕ/мл). При этом 65,4% образцов содержали менее 10^3 КОЕ/мл психротрофов. Высокая обсемененность некоторых партий молока психротрофами объясняется низким качеством мойки и дезинфекции оборудования для хранения и транспортировки охлажденного молока, адгезией клеток психротрофов к поверхностям из нержавеющей стали и образованием на них колоний [1040], достаточно высокими температурами хранения молока по сравнению с применяемыми за рубежом. Так, если время генерации *Pseudomonas fluorescens* в молоке при 4° С равняется 10,5 ч, то при 10° С – 5,5 ч [892]. Эти данные свидетельствуют о том, что главной причиной высокого загрязнения молока психротрофами является размножение в недостаточно охлажденном молоке. По Кузину с соавт., 75% закупленного учебно-опытным заводом Вологодского молочного института молока содержало более 10^6 КОЕ/мл психротрофов [892]. В молоке, поступающем на сыродельный завод ВНИИМС, содержание психротрофов достигало 80% от общего содержания бактерий [1414]. Психротрофы обладают низкой редуцирующей активностью и поэтому не полностью выявляются редуктазной пробой. Вызывает удивление большое увеличение содержания психротрофов в молоке во время транспортировки: при среднем увеличении содержания микроорганизмов в молоке за время транспортировки в 3,2 раза, численность психротрофов увеличилась в 21,7 раза [1715]. Возможно, это связано с увеличением содержания растворенного в молоке кислорода или с разобщением скоплений психротрофов, в результате чего количество клеток психротрофов, составляющих образующую колонию единицу, уменьшается, а следовательно, увеличивается количество колониеобразующих единиц при постоянном содержании клеток.

Состав психротрофной микрофлоры сырого молока (% от общего числа психротрофов): *Pseudomonas* 37,1; *Acinetobacter* – 24,7; *Flavobacterium* – 13,7; *Escherichia* – 10,7; *Micrococcus* – 6,0; *Enterobacter* – 5,0;

Aeromonas – 1,8; *Klebsiella* – 1,0 [1756]. Близкий состав психротрофов молока установлен венгерскими исследователями, но они нашли дополнительно представителей родов *Alcaligenes* и *Serratia* [865].

Психротрофы можно разделить на такие, у которых способность расти при низких температурах является родовым или видовым признаком (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium* и др.), и такие, у которых это свойство присуще только части штаммов, например, энтеробактерии. До 75% психротрофов сырого молока принадлежат к *Pseudomonas* и *Acinetobacter* [932]. В Японии установлено, что 90,2% культур психротрофов, выделенных из сырого и пастеризованного молока, являются псевдомонадами [721], в Аргентине доля псевдомонад среди психротрофов сырого молока превысила 50% [875]. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, составляющие основную часть психротрофов сырого молока, являются грамотрицательными палочками размером, соответственно (0,5–1,0)×(1,5–5,0); (0,9–1,6)×(1,5–2,5) и (0,5–1,0)×(1,0–3,0) мкм [1552]. Представители рода *Acinetobacter* в стационарной фазе развития приобретают сферическую форму. Флавобактерии неподвижны, ацинетобактеры двигаются рывками, псевдомонады осуществляют плавающее движение с помощью одного или нескольких жгутиков. Строгие аэробы, метаболизм дыхательный с использованием кислорода в качестве конечного акцептора электронов, псевдомонады могут расти в анаэробных условиях с использованием в качестве акцептора электронов нитратов. Ацинетобактеры в питательных средах не образуют пигментов, псевдомонады образуют флюоресцирующие диффундирующие и недиффундирующие пигменты, флавобактерии при росте на питательных средах образуют пигменты от желтого до оранжевого цвета.

Из псевдомонад в молоке чаще всего обнаруживают *P. fluorescens*, и, кроме него, *P. putida*, *P. fragi*, *P. aeruginosa* [865, 1756]. Они непатогенны для человека, кроме *P. aeruginosa*, который является условно-патогенным или даже патогенным микроорганизмом [1039, 1403]. *P. aeruginosa* (синегнойная палочка) образует диффундирующий нефлюоресцирующий пигмент сине-зеленого цвета, *P. fluorescens* пигменты этого типа не образует. *P. aeruginosa* синтезирует экзо-, эндоэнтеротоксины и может вызывать заболевания по типу пищевых и водных токсикоинфекций, но случаи таких заболеваний через сыры в литературе не описаны (сычужные сыры неблагоприятны для роста строгих аэробов). Доля желудочно-кишечных заболеваний, вызываемых синегнойной палочкой, в общем количестве заболеваний ЖКТ, вызванных условно-патогенными микроорганизмами, равняется 2,04% [1270]. *P. aeruginosa* при хороших гигиенических условиях получения молока редко обнаруживается, однако при неудовлетворительной мойке и дезинфекции оборудования она обнаруживалась в 56% проб в количестве от 10 до 10^6 КОЕ/мл [1419].

Способностью медленно расти при низких температурах обладают *L. monocytogenes* и *Y. enterocolitica*, но доля этих видов в общем количестве психротрофов сырого молока незначительна.

Оптимальные температуры для роста *P. aeruginosa* – 37° С, для остальных видов – 22–26° С; *P. aeruginosa* не растет при температуре 4° С и ниже, растет при 41° С; *P. putida* и *P. fluorescens* растут при 4° С, но не 41° С; *P. fragi* не растет при температуре выше 36° С [393, 1039, 1552]. Оптимальный pH для роста *P. aeruginosa* в молоке равен 6,25–6,50; рост этого вида в средах задерживали 5% соли [393].

В сыроделии условия для преимущественного роста психротрофов создаются при хранении молока и сыра при 2–8° С и созревании молока при 8–12° С. Сведения о скорости развития психротрофов в молоке при этих температурах противоречивы. По одним данным, за 4 сут их количество в молоке увеличилось при 2° С в 3–4 раза, при 4° С – в 6–8 раз [790], по другим – в 41 [788] или в 100 раз [892]. По данным венгерских ученых, количество психротрофов в молоке за 48 ч хранения при температурах 2, 5 и 8° С возросло в 2; 3,8 и 6,6 раза соответственно [1715].

В табл. 6.25 показано развитие психротрофов в молоке в зависимости от степени его исходного загрязнения микроорганизмами, температуры и продолжительности хранения [1464]. В молоке со сравнительно невысокой исходной бактериальной обсемененностью количество психротрофов увеличилось за двое суток при 4–5° С примерно в 13 раз, при 7–8° С – в 500 раз и при 10–12° С – в 800 раз. В молоке с высокой исходной бактериальной загрязненностью скорость размножения психротрофов уменьшилась в 3–7 раз. Тесной корреляции между исходным и конечным содержанием психротрофов в молоке после хранения или созревания нет.

***6.25. Влияние температуры и продолжительности хранения на размножение психротрофов в сыром молоке с различной степенью исходного обсеменения микроорганизмами* [1464]**

Тип молока*	Время хранения,ч	Количество бактерий (lgN/мл)						Средняя удельная скорость роста, (1/ч)·100					
		психротрофы			общее кол-во			психротрофы			общее кол-во		
		при температуре хранения, °С											
		4-5	7-8	10-12	4-5	7-8	10-12	4-5	7-8	10-12	4-5	7-8	10-12
I	0	3,9	3,9	3,9	4,7	4,7	4,7						
	24	4,7	5,1	6,1	5,2	5,7	6,2	7	11	21	5	9	14
	48	5,1	6,6	7,4	5,2	6,3	7,3	6	13	17	2	7	12
II	0	6	6	6	7	7	7						
	24	6,1	6,3	6,5	7	7,2	7,3	1	2,4	4,4	1	2,2	3,7
	48	6,4	6,8	6,4	7	7,4	7,5	1,7	4,0	2	0,9	2,2	2,8

*I – молоко с низкой исходной бактериальной обсемененностью; II – молоко с высокой исходной бактериальной обсемененностью.

Различия в интенсивности развития психротрофов в молоке, устанавливаемые разными авторами, могут быть также обусловлены неодинаковым составом психротрофной микрофлоры в изучаемых образцах сырого молока. При температурах 4–5° С и ниже в молоке активно размножается только *P. fluorescens*, что, очевидно, и делает этот вид наиболее распространенным в сыром молоке, хранившемся при достаточно низких температурах [853, 957]. Чем выше исходная доля этого вида среди психротрофов, тем быстрее будет идти накопление их биомассы.

Как среда для роста психротрофов образцы молока по физико-химическим свойствам могут сильно различаться. Особенно большое значение имеет содержание в молоке растворенного кислорода, поскольку большинство психротрофов являются строгими аэробами.

Снижение интенсивности размножения психротрофов в молоке низкого бактериального качества можно объяснить ингибиторным действием на рост психротрофов остальной микрофлоры. Имеются многочисленные данные об ингибировании роста психротрофов в молоке молочнокислыми бактериями. Кузин изучал совместный рост *P. fluorescens* и молочнокислых бактерий в молоке при 9–11° С [1463]. Посевные дозы псевдомонад $(0{,}01–1{,}0)\cdot10^6$ КОЕ/мл, молочнокислых бактерий – $(0{,}01–10)\cdot10^6$ КОЕ/мл. Степень антагонизма количественно он характеризовал антагонистическим индексом (A):

$$A = 100 - 100\cdot K_c/K_ч, \qquad (6.9)$$

где K_c – количество жизнеспособных клеток психротрофов в смешанной, $K_ч$ – в чистой культуре.

В табл. 6.26 приведены результаты его исследований. Из 112 проверенных штаммов молочнокислых бактерий только 4 не обладали антагонизмом к *P. fluorescens*, что свидетельствует о том, что способность подавлять рост этого вида в молоке при 9–11° С является общим свойством молочнокислых бактерий, хотя выраженность антагонистических свойств неодинакова у различных родов, видов и штаммов. Наиболее сильными антагонистами из лактококков оказался подвид *Lc. diacetylactis*, из лейконостоков – *Leuc. cremoris*, среди лактобацилл – *Lbc. casei*. В пределах вида антагонистическая активность была наименее изменчива у *Leuc. cremoris* и *Lbc. casei*, штаммы которых по антагонистической активности разнились не более чем на 25%. Антагонистические индексы были в 1,4–9,2 раза выше при совместном росте в первые 24 часа, чем по прошествии 48 ч. Так, если после 24 ч совместного роста с *Lbc. casei* количество жизнеспособных клеток псевдомонад было ниже на 30,3%, то после 48 ч разница уменьшилась до 12,4%. Важно, что антагонистическое действие на псевдомонады проявили даже виды и штаммы молочнокислых бактерий, которые не размножались при 9–11° С в течение 1–2 сут, в частности *Lbc. casei*. Американские ученые наблюдали значительное ингибирование роста психротрофов при 5,5° С при внесении в среду $2{,}5\cdot10^8$ /мл болгарской палочки, которая не размножается при этой температуре; степень ингибирования коррелировала с коли-

чеством образуемой лактобациллами перекиси [694]. Это явление можно объяснить или внесением с инокулятом молочнокислых бактерий специфических антибиотических веществ, адсорбированных на поверхности клеток, или разобщенностью процессов размножения и синтеза антибиотических веществ, подобно разобщенности кислотообразования и размножения у лактококков (гл. 3). Каким бы ни был механизм ингибирования роста психротрофов покоящимися клетками лактобацилл, это явление позволяет использовать молочнокислые бактерии для ограничения роста психротрофов во время хранения или созревания молока без опасения нежелательных для производства сыра изменений физико-химических свойств молока. Добавление в сырое молоко иммобилизованных в частицах Са – альгинатного геля клеток *L. lactis* и *Lbc. helveticus* в количестве $2{,}7 \cdot 10^7$ и $13 \cdot 10^7$ клеток/мл, соответственно, снижало в нем содержание психротрофов после 2-суточного хранения при 7° С на 50% при снижении pH только на 0,1–0,22 ед. [157].

***6.26. Антагонистическая активность молочнокислых бактерий по отношению к P. fluorescens при совместном росте в молоке при 9–11° С* [1463]**

Микроорганизмы	А	
	24 ч	48ч
Лактококки:		
Lc. lactis	17,1	6,8
Lc. cremoris	13,6	4,5
Lc. diacetylactis	25,7	12,5
Лейконостоки:		
Leuc. lactis	21,2	2,3
Leuc. cremoris	22,8	15,9
Лактобациллы		
Lbc. casei	30,3	12,4

Положительные результаты получены при использовании специальных заквасок для созревания молока с целью ингибирования роста психротрофов [158]. Закваски с таким функциональным назначением может поставлять Угличская экспериментальная биофабрика.

Пастеризация молока при 72° С в течение 15 с снижала содержание в нем псевдомонад с 10^6 клеток/мл до 10 клеток/мл; выдержка этого молока после пастеризации при 7° С в течение 7 сут привела к увеличению содержания псевдомонад до 10^4 клеток/мл [1156]. Таким образом, пастеризация молока по принятому в сыроделии режиму не полностью уничтожает псевдомонады при достаточно высоком их исходном содержании в молоке. В то же время, Mikawa, изучив очень большое количество психротрофных бактерий, выделенных из сырого и пастеризованного молока, пришел к выводу об их уничтожении во время пастеризации молока при 63° С в течение 30 мин [721]. Анаэробные условия в

сырах препятствуют активному развитию психротрофов молока, большинство которых являются строгими аэробами [788], но существует прямая корреляция между содержанием психротрофов в твердых сырах с низкими температурами II нагревания после прессования и количеством психротрофов в смеси для выработки сыра (r = 0,92) [921].

В опытах Перфильева (неопубликованные материалы) психротрофы достаточно активно размножались во время созревания Голландского сыра. Независимо от исходного содержания в смеси их содержание в период максимума составило $(2,2–2,7)\cdot10^8$ КОЕ/г. Однако этот максимум наступил в сырах, выработанных при исходном содержании в смеси единиц, тысяч и десятков тысяч КОЕ/мл психротрофов соответственно через 35, 26 и 15 сут созревания. Напрашивается вывод, что в сырах имеется ограниченное количество источников энергии, которые могут быть использованы только психротрофными клетками (в противном случае они были бы использованы к 15–35-суточному возрасту мезофильной микрофлорой сыра). Видовой состав психротрофов сыра Перфильевым не был исследован. По-видимому, в этом случае размножались штаммы факультативных анаэробов, обладающих психротрофными свойствами.

Несколько другие результаты получены литовскими исследователями [1744]. По их данным, увеличение содержания психротрофов в сырах с низкой температурой II нагревания наблюдалось только на начальном этапе созревания, после чего оно стало снижаться. Не установлено статистически достоверной связи между содержанием психротрофов в период максимума и в конце созревания. Масштабы размножения психротрофов зависели от активности молочнокислого брожения.

Различия между результатами этих исследований можно объяснить неодинаковым составом психротрофов в сырах, в частности долей в их составе энтеробактерий. Имеется сообщение, что до 25% психротрофов сыра могут быть представлены энтеробактериями.

Вред сыроделию приносят протеолитические и липолитические энзимы, образуемые психротрофами в молоке и сохраняющие активность после пастеризации. Во время роста в молоке протеолитически активные виды и штаммы психротрофов переводят часть белка в растворимое состояние, что снижает выход сыра. Для определения величины снижения выхода сыра из-за размножения психротрофов предложена формула [436]:

$$\Delta M = -0,368\,T/6,1\,, \qquad (6.10)$$

где ΔM – снижение выхода сыра в кг на 100 кг переработанного молока, T – продолжительность холодильного хранения молока в сутках.

Эта формула дает ориентировочную цифру, так как она не учитывает ряда факторов, влияющих на интенсивность роста и продуцирования протеолитических энзимов психротрофами, в частности температуры хранения.

Протеолитические и липолитические энзимы психротрофов, сохраняющие активность после пастеризации молока, вызывают прогорк-

лый, горький, салистый, фруктовый вкус и некоторые другие привкусы; выраженность этих пороков зависит от количества образовавшихся энзимов, температуры и продолжительности созревания сыров. Фруктовый вкус и запах, например, возникают в результате взаимодействия жирных кислот – продуктов гидролиза молочного жира липазами – и спиртов, образуемых лейконостоками, дрожжами и некоторыми другими микроорганизмами [746]. При высоком содержании в молоке психротрофы ухудшают сычужную свертываемость молока, делают сычужный сгусток менее плотным, плохо отдающим сыворотку, время сычужного свертывания в зависимости от вида психротрофов может снижаться или возрастать. Выдержка молока при низких температурах вызывает изменения мицелл казеина, что также серьезно ухудшает его сычужную свертываемость (гл. 2). Разделить влияние психротрофов и химических изменений молока под воздействием низких температур на его сыропригодность трудно.

В молоке с высоким содержанием психротрофов скорость кислотообразования лактококками повышается, что обусловлено образованием низкомолекулярных продуктов протеолиза. Большинство исследованных штаммов психротрофов стимулировало рост *List. monocytogenes* [304].

Протеолитической и липолитической активностями обладали 94% выделенных из молока псевдомонад, в т. ч. 23,4% сильной и 29,4% слабой протеолитической активностью [1463]. Среди психротрофов других родов обнаружены слабые протеолиты и липолиты. Wessels et al. нашли, что из 75 психротрофных культур энтеробактерий 7 обладали протеолитической активностью в молоке при 7° С, 10 – при 25° С; липолитической активностью – 9 культур [1164].

Образование внеклеточных протеиназ и липаз псевдомонадами происходит в конце логарифмической и начале стационарной фаз роста, когда плотность их популяции превысит 10^5 КОЕ/мл [999]. Достаточно высокие концентрации внеклеточных протеиназ и липаз в молоке обнаруживаются при наличии 10^6–10^7 КОЕ/мл псевдомонад [911]. При длительном культивировании начинается автолиз клеток псевдомонад и в среду выделяются внутриклеточные протеиназы. Очищенные аминопептидазы из *P. fluorescens* расщепляют синтетические «горькие» пептиды (не все) и сохраняют активность в сыре в течение 2 мес [366].

В культуральных средах *P. fluorescens* и *P. aeruginosa* максимальное количество протеиназ и липаз образуется при 20 и 30° С соответственно [514]. С понижением температуры содержание этих энзимов в среде уменьшается, а в пересчете на единицу сухой биомассы увеличивается; при температуре 2° С синтез протеиназ и липаз прекращается или происходит с очень низкой скоростью. При 4° С синтез протеиназ и липаз *P. fluorescens* на ед. клеточной массы был на 25% выше, чем при 10° С [389]. Липолитическая активность псевдомонад наиболее сильно проявляется при 5° С [1635].

Оптимальный pH для синтеза протеиназ и липаз псевдомонадами лежит в интервале 6,8–7,4; в отсутствие аэрации они начинают синтези-

ровать внеклеточные протеиназы и липазы при более низкой концентрации клеток в среде [1463].

Уникальным свойством протеиназ и липаз психротрофов является необычайно высокая термоустойчивость. Они не инактивируются пастеризацией молока при 77° С в течение 17 с и 140° С в течение 5 с; $Д_{90°C}$ протеиназы *P. fluorescens* равнялось 110 мин [241]. $Д_{135°C}$ протеиназ психротрофов было в 10 раз выше, чем Д-значение спор *B. stearothermophilus* [321]. Однако 20-минутная выдержка при 55 и 60° С снижает активность протеиназ психротрофов на 47 и 44%, увеличение продолжительности выдержки при этих температурах повышает степень инактивации [586]. При 45° С они инактивируются за 30 мин. Если при 60°С протеиназы психротрофов инактивируются, то при температурах выше 65° С они становятся термоустойчивыми [172, 875]. Липаза *P. fluorescens* полностью или частично инактивировалась при 65° С, протеиназа оставалась активной [172]. По Law, липазы псевдомонад полностью или частично сохраняют активность после выдержки при 63° С в течение 30 мин [605]. Инактивацию протеиназ при относительно низких температурах объясняют их автолизом, устойчивость к высоким температурам – конформационными изменениями белка [241]. Возможно, это явление обусловлено разрушением ингибиторов протеиназ при повышенных температурах. Интересно, что в ультрафильтрате молока без казеина липаза *P. fluorescens* инактивируется при нагревании до 60 и 65° С, а в ультрафильтрате с казеином сохраняет свою активность [347]. Протеиназы, образуемые различными штаммами и видами псевдомонад, могут обладать различной термоустойчивостью.

Поскольку достаточные количества протеиназ и липаз образуются психротрофами в молоке, когда их количество превысит 10^6 КОЕ/мл, а пастеризацией молока эти энзимы не инактивируются, можно ожидать, что сыры, выработанные из молока с таким уровнем развития психротрофов, будут низкого качества. В сыре Чеддер, выработанном из молока с наличием более 10^7 КОЕ/мл психротрофов, количество свободных жирных кислот было в 3–10 раз выше, чем в сырах из молока с низким содержанием психротрофов; в 4-месячных опытных сырах появился прогорклый вкус [605].

Голландский сыр из молока с 10^6 КОЕ/мл психротрофов в зрелом возрасте получил оценку на 1 балл ниже, чем контрольный сыр, а опытный сыр из молока с $5 \cdot 10^6$ КОЕ/мл – ниже на 3 балла [1756]. Небольшая разница в оценке обусловлена коротким периодом созревания этого сыра (45 сут), во время которого результаты деятельности энзимов психротрофов не успели проявиться в полной мере. Зрелые сыры хранили при 1 и 8° С в течение 3-х мес: после хранения при 1° С качество опытных сыров было ниже контрольных на 1–2 балла, при 8° С – на 3–6 баллов.

Сыры Камамбер, выработанные из молока, хранившегося 9 дней при 5° С, имели горький и прогорклый вкус, не имели аммиачного запаха, содержали больше свободных жирных кислот, чем сыры, выработанные из этого же молока после 2-суточного хранения при 5° С [261].

Псевдомонады, добавленные в молоко после пастеризации, во время выработки и созревания твердого сыра с низкой температурой II нагревания не размножались и быстро вымирали. Это объясняет отсутствие токсикоинфекций через сыры, вызываемых *P. aeruginosa*. Таким образом, основной контроль психротрофов должен проводиться на стадии созревания и резервировании молока. Однако, психротрофные энтеробактерии, составляющие небольшую долю психротрофной микрофлоры сырого молока, размножаются в сырах и могут образовывать протеиназы и липазы непосредственно в сыре. В сырах они вызывают те же пороки, какие вызывают соответствующие энзимы псевдомонад [1164]. В твердых сырах энтеробактерии составляют до 21% общего числа психротрофов [891].

Kielwein показал, что *P. fluorescens* является причиной гнилостного запаха Эмментальского сыра [544], однако нужно отметить ненормальный состав микрофлоры изученных им дефектных сыров.

Псевдомонады были ответственны за появление красно-коричневых пятен и гнилостного запаха на поверхности сыра Моцарелла [139]. Источником загрязнения этого сыра псевдомонадами было не молоко, а вода, применяемая в производстве. Псевдомонады могут вызывать пороки корки и других сыров, в т. ч. твердых сыров с высокими температурами II нагревания [Smith, 1988]. Псевдомонады хорошо размножаются в сыре Коттедж и являются главными виновниками его микробиологической порчи [1154].

Хорошие результаты в предотвращении порчи Домашнего сыра псевдомонадами дает применение биогарда – препарата, приготовленного на основе бактериоцинов молочнокислых бактерий [95, 1154]. В опытном сыре с 0,4% биогарда при 7,2° С микрофлора не размножалась в течение 30 дней, большинство контрольных сыров потеряли потребительские качества через 21 день, когда содержание в них псевдомонад достигло 10^8 КОЕ/г.

Меры предотвращения снижения качества сыров в результате размножения в молоке психротрофов включают:

- улучшение гигиены молока, включая особенно тщательную мойку и дезинфекцию оборудования для хранения охлажденного молока, молокопроводов после каждого производственного цикла;
- хранение молока при температурах ниже 4° С, при которых синтез протеиназ и липаз психротрофами не происходит или идет с очень низкой скоростью;
- термизацию или пастеризацию молока перед хранением и созреванием;
- добавление в молоко, направляемое на созревание или хранение, заквасок, обладающих специфическим антагонизмом по отношению к психротрофам;
- предотвращение вработки воздуха в молоко путем контроля работы насосов, исправности прокладок;

- насыщение молока, находящегося на хранении или созревании, CO_2 или азотом для создания анаэробных условий.

6.8. Заключение

Микрофлору, способную ухудшить показатели реализации и безопасности твердых сыров, можно разделить на три группы. Представители первой группы размножаются во время выработки и созревания сыра до тех пор, пока в сырной массе есть углеводы. К ним относятся факультативно анаэробные грамотрицательные палочки (семейство *Enterobacteriaceae*: *Escherichia*, БГКП, *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia* и др.), грамположительные неспорообразующие палочки правильной формы (*Lactobacillus*, *Listeria*), грамположительные кокки, факультативные анаэробы (*Staphylococcus*, *Enterococcus*). Микроорганизмы этой группы при размножении до определенного уровня вызывают пороки вкуса и запаха, консистенции и рисунка, раннее вспучивание (БГКП), токсикозы и токсикоинфекции. Главные меры по предупреждению размножения этих видов до критического уровня – соблюдение режима пастеризации и санитарных правил по производству сыра, обеспечение нужной скорости молочнокислого брожения.

Ко второй группе относятся спорообразующие грамположительные анаэробные палочки рода *Clostridium*, способные получать энергию путем сбраживания лактатов (маслянокислые бактерии). Эти бактерии могут размножаться на протяжении всего периода созревания твердых сыров. Они вызывают появление прогорклого, слащавого вкуса, мажущейся консистенции, рваного, броженого, излишне развитого рисунка, позднего вспучивания, белесой окраски сырного теста. Главной мерой профилактики развития маслянокислых бактерий в твердых сырах является отбраковка молока, обсемененного спорами этих бактерий, бактофугирование и микрофильтрация молока, контроль качества силоса, прекращение производства чувствительных к маслянокислому брожению сыров в периоды силосного кормления коров. Дополнительными мерами являются использование нитратов, заквасок, обладающих специфическим антагонизмом к споровым анаэробам, корректировка технологии в периоды наиболее вероятного загрязнения молока спорами маслянокислых бактерий в направлении снижения массовой доли влаги и повышения массовой доли соли, снижения температуры посолки, созревание сыров при температурах ниже 12° С.

К третьей группе относятся аэробные/микроаэрофильные грамотрицательные психротрофные палочки (*Pseudomonas*, *Flavobacterium* и др.), которые, размножаясь в молоке, образуют протеолитические и липолитические энзимы, сохраняющие активность после пастеризации молока. Главные меры профилактики: соблюдение гигиены получения молока, поддержание температуры молока при длительном хранении на уровне 3–4° С. Дополнительные меры: созревание молока в пастеризованном виде с внесением специальных заквасок.

ГЛАВА 7

МОЛОКО КАК СЫРЬЕ ДЛЯ ВЫРАБОТКИ СЫРА

7.1. Основные понятия

Для производства сыров используют коровье, козье, овечье, буйволиное молоко и их смеси. Молоко от разных животных имеет неодинаковый состав и свойства, что придает специфические особенности вырабатываемым из него сырам. Объектом настоящей работы является коровье молоко, из которого вырабатывают большинство сыров в России, хотя многие ее положения справедливы и для молока других животных.

Сыроделие наиболее требовательно к качеству молока. Эти требования обобщает понятие «*сыропригодность*». Сыропригодным считают молоко, из которого по принятой биотехнологии и при соблюдении правил гигиены можно выработать сыр с требуемыми химическими, органолептическими и гигиеническими показателями и выходом. Сыропригодное молоко не должно содержать химических и микробиологических загрязнителей в количествах, представляющих опасность для здоровья потребителей и ухудшающих органолептические показатели сыра.

Сыропригодность зависит не только от состава и свойств молока, но и от особенностей биотехнологии сыров, для производства которых оно предназначено. Требования к качеству молока для кисломолочных и твердых сычужных сыров, например, сильно отличаются. Так, в производстве твердых сыров обсемененность спорами маслянокислых бактерий и сычужная свертываемость являются важнейшими показателями сыропригодности молока, а в производстве кисломолочных сыров они не играют существенной роли. В настоящей работе сыропригодность молока в основном рассматривается с точки зрения производства твердых сычужных сыров с низкими и высокими температурами II нагревания.

В литературе широко используются понятия *«молоко нормального состава»* и *«анормальное молоко»*. *Молоко нормального состава* – это свежевыдоенное молоко от здоровых коров, полученное при полноценном кормлении не ранее чем через семь дней после отела и не позднее чем за десять дней до начала сухостойного периода. Состав и свойства «нормального» сборного молока варьируют в зависимости от породы коров, стадии лактации, сезона, кормления и других факторов, но, как правило, такое молоко сыропригодно. Одной из основных задач в сыроделии является сохранение состава и свойств нормального молока на пути от коровы до сыродельной ванны. Это сложная задача, так как молоко является скоропортящимся продуктом, но ее успешное решение – необходимое условие получения качественного сыра.

Анормальное молоко – это молоко, содержащее неприсущие нормальному молоку вещества, попадающие в него в организме коровы или после выхода из вымени, а также молоко с измененным составом и

свойствами, например, в результате болезни или плохого кормления коров. Возможность использования для производства сыров анормального молока зависит от глубины и характера изменений его состава и свойств и типа сыра. Как правило, твердые сыры удовлетворительного качества из анормального молока не выработать. К сожалению, из-за отсутствия достаточно быстрых и точных методов контроля анормальное молоко нередко идет на переработку. Устранить недостатки анормального молока при переработке удается только в редких случаях.

Концентрирование основных компонентов молока при выработке сыра происходит в результате энзиматического свертывания казеина и удаления из образовавшегося сгустка части сыворотки под действием естественного его сжатия – синерезиса – и внешних нагрузок. Реакцию молока на действие сычужного энзима называют *сычужной свертываемостью*. Сычужную свертываемость характеризуют продолжительностью и свойствами образующегося сгустка. Белоусов и Таймистров разделили молоко от отдельных коров по времени свертывания при внесении 0,01% сычужного порошка на три типа: молоко первого типа свертывалось за 30 мин, второго типа – за 31–70 мин и третьего типа – более чем за 70 мин [1429]. Их опыт показывает широкую вариабельность продолжительности сычужного свертывания молока. Между партиями сборного молока различия по этому показателю уменьшаются, но полностью не исчезают.

Содержание влаги в свежевыработанном сыре зависит от скорости синерезиса, которая при прочих равных условиях определяется свойствами сычужного сгустка, в частности его плотностью. Плотность сгустка обратно пропорциональна продолжительности сычужного свертывания [1429]. Молоко, дающее «слабый», дряблый сгусток, плохо отдающий сыворотку, называют «*сычужновялым*». В обзоре ранних работ, выполненном Климовским, указано, что в зависимости от региона от 13 до 43,6% коров дают сычужновялое молоко. По-видимому, в их число попали коровы с субклиническими маститами, о чем свидетельствует высокий уровень pH сычужновялого молока в этих исследованиях. Слабый сгусток не только обладает плохими синеретическими свойствами, но при его обработке теряется много белка и жира, что снижает выход сыра [80]. В некоторых случаях недостатки сычужновялого молока можно, хотя бы частично, устранить технологическими мерами, но, как правило, такое молоко непригодно для выработки сыра.

Таким образом, *одним из главных условий* сыропригодности молока является его способность быстро свертываться молокосвертывающими энзимами с образованием плотного сгустка, который хорошо отдает сыворотку и удерживает жир.

Второе принципиальное условие сыропригодности – молоко должно быть хорошей средой для развития микрофлоры, необходимой для формирования органолептических показателей сыров.

7.2. Химический состав и основные свойства

Состав основных компонентов коровьего молока приведен в табл. 7.1 (диапазон колебаний приведен для молока нормального состава). На практике диапазон колебаний составных компонентов молока может быть шире (так, например, в молоке может содержаться менее 2% казеина), но в этом случае молоко нельзя считать нормальным.

Средний состав молока, поступившего в 1992–1995 гг. на ряд молочных заводов России (в %) (по неопубликованным данным Перфильева, 1998), равняется: сухих веществ – 11,95±0,29; жира – 3,56±0,25; белка – 3,13±0,20; казеина – 2,40±0,15.

7.1. Состав коровьего молока **[80, 253, 1199, 1223, 1258, 1261, 1285, 1691]**

Компоненты молока	Содержание в 100 г	
	среднее	колебания
1	2	3
Сухое вещество, г	12,70	10,0–18,0
Белки (всего), г	3,58	3,28–3,88
Казеины, г	2,78	2,56–3,1
в том числе α_s-казеины		1,20–1,45
β-казеины		0,80–1,10
$\varkappa$-казеины		0,30–0,40
γ-казеины		0,10–0,15
Сывороточные белки, г	0,68	0,50–0,80
в том числе β-лактоглобулин	0,25	0,20–0,40
α-лактальбумин	0,15	0,10–0,20
Белки крови в том числе альбумин сыворотки	0,03	0,01–0,04
иммуноглобулины	0,10	0,05–0,10
протеозо-пептоны	0,15	0,13–0,32
Ферменты, г	0,025	0,02–0,03
Жиры, г	3,6	3,00–4,60
Лактоза, г	4,8	4,70–4,85
Глюкоза,	0,02	
Цитраты, г	0,16	0,13–0,20
Фосфаты, г	0,21	
Мочевина, мг	14,21	10,95–17,47
Диоксид углерода, мг	10,00	–
Кислород, мг	1,6	–

Продолжение таблицы 7.1.

1	2	3
Макроэлементы, мг		
кальций	120	97–159
калий	146	100–185
магний	14	6,2–35
натрий	50	32–75
фосфор	95	36,7–129
хлор	110	110–234
Микроэлементы, мкг		
железо	67	10–100
йод	9	1–34
кадмий	1,8	1,5–3,7
кобальт	0,8	0,5–25
марганец	3	0,5–6,5
медь	10	3–16
цинк	400	200–700
свинец	10	2–15
Энергетическая ценность, Дж	262	

7.2.1. Белки

С точки зрения сыроделия белки – главный компонент молока. В табл. 7.1 приведено среднее содержание и пределы колебаний белка и казеина по 23 наиболее распространенным в России и Европе породам коров, отражающие их генетический потенциал.

Состав белков молока рассмотрен в главе 2 и приведен в табл. 7.1. Главным фактором, от которого зависит сыропригодность молока и выход твердых сыров, является содержание казеина [323, 380, 603, 617, 618, 689, 693, 740, 1593], которое составляет в молоке нормального состава 75–85% от содержания белка [1277]. С увеличением содержания казеина в молоке возрастает содержание Са и Р, повышается титруемая кислотность, ускоряется сычужное свертывание и возрастает плотность и способность сгустка к синерезису, снижаются количество образующейся при обработке сгустка сырной пыли и потери жира и белка, т. е. улучшаются все физико-химические показатели молока как сырья для выработки сыра (табл. 7.2) [323]. Влияние этого фактора на плотность сгустка выше, чем влияние pH и содержание ионов Са.

В анормальном молоке, показателем которого является высокое содержание соматических клеток, содержание казеина не коррелирует с общим содержанием белка и СОМО. В сычужновялом молоке много γ-, но мало α- и β-казеинов. Сыры, выработанные из сычужновялого молока, имеют более высокое содержание влаги, горький вкус, неудовлетворительную консистенцию и низкий выход [491, 797].

7.2. Взаимосвязь между содержанием в молоке казеина, химическим составом и технологическими свойствами молока [323]

Показатели, ед. изм.	Содержание в молоке:	
	I (n=26)	II (n=26)
Среднее содержание казеина, %	2,52	2,29
Содержание коллоидного Са, мг/100 мл	79,20	72,40
Содержание коллоидного Р, мг/100 мл	48,90	44,70
Содержание коллоид. неорг. Р, мг/100 мл	26,60	24,50
Титруемая кислотность, °Т	16,40	15,90
Время свертывания, мин	9,80	12,70
Плотность сгустка, усл. ед.	39,70	33,00
Сопротивление сгустка на сжатие, г	31,30	27,00
Напряжение сгустка, дина/см	16,30	14,20
Время синерезиса, мин	29,04	35,00
Выход сыра Пармезан, %	8,58	7,96
Потери с сывороткой, %		
жира	15,58	17,62
Са	33,91	36,64
Р	48,56	50,00

Очень сильно влияет на сычужную свертываемость молока и выход сыра содержание $\varkappa$-казеина, которое подвержено большим изменениям, чем содержание других казеинов. Изменение доли β-казеина влияет на время свертывания, но не на свойства сгустка. Крупные мицеллы содержат больше α_{s1}-, α_{s2}-казеинов и, возможно, β-казеина. Прочность сгустка тесно коррелирует с содержанием в молоке α_{s1}-казеина, что говорит о том, что этот казеин является основой формирования структурной сетки сгустка [376, 380].

Изменение содержания $\varkappa$-казеина в мицелле на 1% приводит к изменению диаметра мицеллы на 20%. Чем выше содержание $\varkappa$-казеина, тем меньше размер мицелл [689, 1593]. Общая продолжительность сычужного свертывания молока минимальна для мицелл казеина средних размеров (Ekstrand et al., 1980; Ekstrand & Larsson-Raznikiewicz, 1984) [213]. По другим данным, время сычужного свертывания молока минимально для молока с мелкими размерами мицелл казеина (табл. 7.3) [376, 1542]. По Нильсену с соавт., если принять время сычужного свертывания молока со средними размерами мицелл при 30° С за 1,00, то для молока с крупными мицеллами оно будет равно 1,27, с мелкими – 0,87 [1542]. При этом продолжительность второй фазы сильнее зависит от размеров мицелл, чем первой. Плотность сгустка из молока с мелкими размерами мицелл быстро возрастает в течение первых 30 мин, затем скорость ее увеличения резко снижается; плотность сгустка молока с крупными мицеллами казеина равномерно увеличивается в течение 120 мин, и она на

15% ниже, чем в первом случае [772]. Молоко с большим количеством мелких мицелл казеина дает более плотный сычужный сгусток [689].

7.3. Сычужная свертываемость молока, обогащенного ультрафильтратами этого же молока с крупными (250–350 нм) и мелкими (125–250 нм) мицеллами казеина [376]

Показатели	Мицеллы	
	крупные	мелкие
Плотность сгустка, г/см^3	3,50	4,85
Время свертывания, мин	19,7	18,6
Время синерезиса, мин	20,8	20,4
Общий казеин, %	1,52	1,40

Сычужный сгусток молока может образоваться только тогда, когда содержание в нем казеина будет не ниже определенного уровня. В молоке с содержанием казеина ниже 0,7% сычужный сгусток не образуется совсем, при содержании более 2,5% казеина между плотностью сгустка и содержанием казеина существует прямая зависимость, причем плотность растет быстрее, чем содержание казеина. Установлено, что в сычужновялом молоке содержание казеина на 9–11% ниже, чем в молоке с нормальной сычужной свертываемостью [491]. Повышение содержания казеина в молоке увеличивает выход сыра не только за счет массы казеина, но и за счет увеличения количества связываемой влаги. При этом в сыре не нарушается отношение массы влаги к массе казеина, а именно это отношение, а не абсолютное содержание влаги, оказывает решающее влияние на качество сыра [1277].

Количество захватываемого и удерживаемого сгустком молочного жира также тесно коррелирует с содержанием казеина: чем выше содержание казеина, тем большая часть жира молока перейдет в сыр [140, 689].

Содержание казеина является важнейшим показателем сыропригодности молока. Поскольку содержание казеина в молоке труднее определить, чем общее содержание белка, а количество казеина в молоке нормального состава пропорционально общему содержанию белка, то на практике в качестве критерия сыропригодности молока обычно используют общее содержание белка. Пригодное для выработки высококачественного сыра молоко должно содержать не менее 3,2% белка [91, 1277]. В некоторых странах, например, в бывшей Чехословакии и в Англии, в качестве показателя сыропригодности используют содержание сухих обезжиренных веществ в молоке, которое должно быть, соответственно, не ниже 8,7 и 8,3% [231, 715]. Этот показатель в молоке нормального состава также коррелирует с содержанием казеина.

Существуют различные генотипы казеинов и β-лактоглобулина: (A, B, C, D, E – α_{s1}-казеина; A, B, C, D – α_{s2}-казеина; A, B – $\varkappa$-казеина; A1, A2, A3, B, B2, C, D, E – β-казеина) [572, 689, 1199, 1277]. Несмотря

на то что генотипы отличаются друг от друга только несколькими аминокислотами и электрофоретической подвижностью, они оказывают существенное влияние на сычужное свертывание и технологические свойства молока. Это может быть обусловлено особенностями генотипов или действием других, генетически связанных с генотипами казеинов, факторов. Молоко с В- и АВ-вариантами æ-казеина быстрее свертывается энзимами, с образованием более плотного сгустка, чем молоко с А-вариантами [380, 693]. Увеличение частоты æ-казеина В в молоке коров стада на 20% увеличивало прочность сгустка эквивалентно повышению содержания белка на 1 г/кг [693].

Продолжительность периода от внесения сычужного энзима до разрезки сгустка значительно меньше для молока с æ-казеином В, чем с А [376]. Консистенция сыра Пармезан была лучше при его выработке из молока с В-вариантом æ-казеина [380]. По-видимому, это обусловлено не особенностями самого В-генотипа, а тем, что молоко, в котором æ-казеин представлен В-вариантом, обычно содержит больше казеина, Са и Р, но меньше цитратов, чем молоко с А-вариантом (Mariani et al., 1976) [380]. Молоко с В-вариантом β-казеина также образует более плотный сгусток, чем молоко с А-вариантом β-казеина (Feagan et al., 1972).

Генотипы α_{s1}-казеина также влияют на сычужную свертываемость молока [376]. В молоке, содержащем А-вариант, медленнее нарастает кислотность, в то время как плотность сгустка снижается в порядке ВС >В >АВ >АА. α_{s1}-Казеин является основой структурной сетки сгустка, поэтому даже небольшие изменения в составе казеина оказывают влияние на реологические свойства сгустка.

Различные генотипы β-лактоглобулина также коррелируют с сыропригодностью молока, хотя этот белок не принимает участия в образовании сгустка. Молоко, содержащее В-вариант этого белка, образует более плотный сгусток, чем молоко с А- и АВ-вариантами, дает более высокий выход сыра в пересчете на сухие вещества, чем молоко с АА-, АВ- и ВВ-вариантами [380]. Это, очевидно, обусловлено тем, что в молоке с β-лактоглобулином В самая высокая доля казеина в белковой фракции молока. Уменьшение частоты β-лактоглобулина В в сборном молоке на 20% снижает время сычужного свертывания на 13% [323].

Молоко с комбинацией фракций казеина (αВС)+(βВ)+(æВ) и (αВ)+(βВ)+(æАВ) целесообразно использовать в сыроделии, так как сгусток из него более плотный, а продолжительность свертывания минимальна [1593].

Безусловно, генотипы белков молока нельзя использовать для сортировки молока в промышленности из-за сложности их определения, но они могут быть полезны как критерии в племенной работе по выведению пород коров, дающих наиболее сыропригодное молоко.

7.2.2. Небелковые азотистые соединения

В молоке всегда присутствуют небелковые азотистые соединения: пептиды, свободные аминокислоты, мочевина, креатин и креатинин,

аммиак и др. Часть этих соединений попадает в молоко из крови коров, часть образуется в молоке в результате действия протеиназ самого молока и жизнедеятельности микроорганизмов. Количество небелкового азота в свежевыдоенном молоке нормального состава составляет около 5% (от 4 до 10) от содержания общего азота [1199, 1277].

Небелковые азотистые соединения в формировании сгустка участия не принимают и остаются в сыворотке. Поэтому чем активнее протеолитические процессы во время хранения и созревания молока, выработки сыра в сырной ванне, тем ниже выход сыра. Низкомолекулярные продукты протеолиза (свободные аминокислоты, пептиды с молекулярным весом меньше 1500), однако, необходимы для размножения микрофлоры закваски на ранних стадиях развития в молоке. В свежевыдоенном молоке нормального состава эти продукты не удовлетворяют стартовые потребности микрофлоры закваски в азотистом питании, что делает такое молоко малопригодным для выработки сыров [309, 614, 1090]. Для активизации развития мезофильных молочнокислых бактерий в молоке во ВНИИМС создан препарат «Актибакт-Углич», представляющий комплекс продуктов энзиматического гидролиза белков молока до низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот, хорошо усваиваемых лактобактериями.

7.2.3. Молочный жир и свободные жирные кислоты

Содержание казеина и жира в молоке – главные факторы, определяющие выход сыра. Однако если степень использования казеина в сыроделии не зависит от содержания жира, которого в молоке нормального состава больше, чем нужно для выработки сыров нормальной жирности, то степень использования жира зависит от содержания в молоке казеина и планируемой жирности сыра. Чем выше отношение содержания белка к содержанию жира в молоке, тем большая доля жира остается в сыре [46]. Чем выше степень использования казеина в сыре, тем лучше для сыроделия, а содержание жира в сыре регламентировано, и если оно превысит установленный уровень, то предприятие понесет убытки, поскольку увеличение при этом выхода сыра не покроет убытки от снижения выхода масла или других жиросодержащих побочных продуктов сыроделия. Чтобы этого не допустить, молоко для выработки сыра нормализуют по жиру и белку, отношение между которыми должно обеспечивать выработку сыра задаваемой жирности. Нормализацию обычно проводят обезжиренным молоком или сепарированием части молока, направляемого на выработку сыра. Повышение содержания жира в смеси по отношению к белку снижает скорость синерезиса, потому что жир чисто механически закупоривает проходы для сыворотки. Жир увеличивает выход сыра только за счет собственной массы.

Жир в молоке располагается в виде шариков диаметром 0,1–10 нм и количеством около 10^{10} мл$^{-1}$ [1261]. Жировые шарики имеют гидрофильную фосфолипидно-белковую оболочку, которая препятствует их соединению друг с другом. Большое количество мелких жировых шариков в молоке увеличивает потери жира с сывороткой.

7.4. *Влияние препарата «Актибакт» на развитие микрофлоры бактериальных препаратов для выработки мелких сычужных сыров* [1649]

Показатели развития	Среды	
	10% восстановленное молоко	Восстановленное молоко + 0,25% Актибакт
Продолжительность, ч		
предлогфазы	3,4±0,4	1,2±0,06
лог-фазы	8,6±1,6	8,2±0,50
фазы замедленного роста	10,5±1,10	11,7±0,90
Время достижения макс. количества, ч	22,5±4,00	16,1±0,80
Максимальное содержание, 10^9 КОЕ/мл	1,2±0,20	2,3±0,30

Реологические показатели сыров, в частности твердость, зависят от соотношения в молочном жире насыщенных и ненасыщенных глицеридов. Fluckiger et al. (1975) установили, что между йодным числом жира молока и твердостью вырабатываемых из него твердых сыров существует обратная корреляционная связь. При высоком йодном числе большая часть глицеридов в сыре при комнатной температуре будет находиться в жидком состоянии, что придает сыру пластичность. Снижение йодного числа свидетельствует об увеличении в жире доли насыщенных жирных кислот и количества глицеридов, находящихся в твердом состоянии, что делает консистенцию сыра более твердой.

Увеличение в молочном жире содержания полиненасыщенной линолевой кислоты при введении в рацион молочных коров подсолнечного жмыха приводит к появлению постороннего привкуса, пастообразной консистенции и бледной окраске сыра Чеддер (Ahmad & Dunlop, 1978). Снижение влажности сыра трансформировало консистенцию в грубую, крошливую.

Французские исследователи считают, что сезонные изменения жирнокислотного состава молочного жира, особенно в пастбищный период, могут быть причиной недостаточного образования глазков в сырах типа Швейцарского [111]. Это связано с повышением содержания в молочном жире ненасыщенных жирных кислот, ингибирующих развитие пропионовокислых бактерий. Ингибирование исчезает при добавлении к молоку холестерина и соевого лецитина.

Свободные жирные кислоты в молоке, которые образуются в результате гидролиза липидов микрофлорой, химического окисления жиров при насыщении молока воздухом и значительном механическом воздействии на него, или попадают в молоко при скармливании некачественных кормов, могут ингибировать рост микрофлоры закваски даже при относительно низких концентрациях [628, 1002]. Свободные жир-

ные кислоты в низких концентрациях ингибируют рост *List. monocytogenes* в молоке [1439].

7.2.4. Лактоза

Для выработки сыра используют только незначительную часть лактозы молока; большая ее часть остается в сыворотке. Количество используемой лактозы не должно превышать определенного уровня, обусловливаемого требуемой кислотностью сыра, которая зависит от его вида.

Содержание лактозы в молоке – один из наиболее точных индикаторов нормальности состава молока. В отличие от белка и жира, содержание лактозы в молоке нормального состава колеблется в узком интервале – от 4,7 до 4,85%. Снижение содержания лактозы свидетельствует о высоком содержании в молоке маститного молока или его фальсификации.

7.2.5. Цитраты

Молоко при выходе из вымени всегда содержит цитраты. В молоке содержится от 0,1 до 0,2% цитратов [1199]. Содержание цитратов зависит от сезона. По данным Муруновой и Климовского, минимальное содержание цитратов в молоке наблюдается в апреле, октябре и ноябре месяцах [1530].

Содержание цитратов в молоке имеет важное значение, прежде всего, для производства сыров с правильным рисунком, формируемым в результате образования углекислого газа микрофлорой закваски. Если газообразующая микрофлора закваски, используемой для производства этих сыров, представлена только *Lc. diacetylactis*, то единственным субстратом для образования ею углекислого газа являются цитраты. Низкое содержание цитратов в молоке приведет к выработке сыра без правильного рисунка или с недостаточно развитым рисунком, что часто наблюдается весной и осенью. При высоком бактериальном обсеменении молока и недостаточно низкой температуре его хранения цитраты в молоке могут быть сброжены до формования сыра, что также приведет к отсутствию правильного рисунка в сыре. Поэтому отсутствие в сырах рисунка часто наблюдается при переработке молока с повышенной кислотностью. При низком содержании цитратов в молоке сыры следует вырабатывать на заквасках, в состав газообразующей микрофлоры которых входят лейконостоки, образующие углекислый газ не только из цитратов, но и из лактозы.

При сбраживании цитратов молочнокислыми бактериями кроме углекислого газа образуются диацетил и ацетоин. Диацетил является важным компонентом вкуса и аромата кисломолочных сыров без созревания и в несколько меньшей степени – твердых сыров. Поэтому недостаток цитратов в молоке может ухудшить вкус и аромат сыров.

7.2.6. Минеральные компоненты

Содержание в молоке минеральных компонентов оказывает влияние на сычужное свертывание и свойства образуемых сгустков, микро-

биологические процессы при выработке сыра, органолептические показатели, критерии безопасности и выход сыра.

Кальций и фосфор. Особо важное значение для производства сыра из минеральных компонентов молока имеют Са и Р. Они принимают активное участие в сычужном свертывании молока, формировании структуры и консистенции сыров, обусловливают определенную буферность сырной массы, играющую важную роль в микробиологических и биохимических процессах. В молоке Са и Р находится в нескольких формах (табл. 2.3). Около 30% Са в молоке находится в составе ККФ и 40% – в составе казеината кальция. На долю истинного раствора приходится 29–33% Са и только 7–10% Са ионизировано. Р присутствует в молоке также в основном в коллоидной форме (около 60%), причем примерно 20% его входит в состав ККФ [772].

Содержание Са и Р в молоке пропорционально содержанию казеина [323]. Количества их, приходящиеся на единицу массы белка или казеина, в частности, варьируют в зависимости от породы коров, что свидетельствует о различной степени минерализации мицеллярного комплекса. Поскольку мицеллярный комплекс казеина является основой формирования структуры сыра, изменение степени его минерализации должно влиять на структурно-механические показатели сыра. Действительно, органолептические показатели сыров в какой-то мере зависят от количеств Са и Р в молоке, приходящихся на единицу белка или казеина, хотя и в значительно меньшей степени, чем от содержания и состава казеинов молока [689].

Содержание ионизированного Са в молоке является одним из основных факторов, влияющих на неэнзиматическую стадию сычужного свертывания молока. Нормальной концентрацией ионизированного Са в молоке считается 11 мг/100 г [1199]. При ее снижении до 8 мг/100 г молоко становится сычужновялым, при повышении до 16 мг/100 г и выше снижается стабильность молока, в частности, при нагревании. Содержание растворенного и ионизированного Са в большой степени зависит от режимов пастеризации и созревания молока, скорости нарастания и конечного уровня кислотности сыворотки и сырной массы во время выработки сыра, т. е. от технологии, которая в конечном счете определяет групповые и видовые особенности сыров. Выдержка молока при 50° С в течение 30 мин понижает содержание ионизированного Са на 11% [1429]. Исходная кислотность молока оказывает более сильное влияние на содержание ионизированного Са в смеси, чем кислотность, достигнутая во время выработки сыра в ванне, что, очевидно, связано с тем, что процесс ионизации Са идет во времени. От содержания коллоидного фосфата кальция зависит скорость энзиматической фазы сычужного свертывания молока [376]. Плотность сгустка зависит от общего содержания Са в молоке.

Поскольку содержание ионизированного Са в молоке снижается после тепловой обработки, в пастеризованное молоко для выработки сыра вносят хлористый кальций в количестве от 10 до 30 г на 100 кг

молока. Дозу хлористого кальция, которая зависит от свойств молока и технологии сыра, устанавливают с помощью прибора для сычужной пробы и характера сычужного свертывания молока в предыдущих выработках сыра. При высокой кислотности молока дозу хлористого кальция уменьшают, поскольку при одинаковом количестве растворенного Ca количество его в ионизированной форме увеличивается с увеличением кислотности молока. Хлористый кальций может быть заменен полностью или частично фосфатом кальция.

Для сыроделия очень важно отношение Ca/P [688]. Молоко с отношением Ca/P меньше 1 медленно свертывалось (36,8 мин), при небольшом увеличении этого отношения свыше 1 оно свертывалось за 34,2 мин, при дальнейшем увеличении – за 27 мин. Повышение отношения Ca/P коррелирует с повышением оценки сыра за вкус и консистенцию (R = 0,71–0,77) [553]. Положительная корреляция наблюдается только до определенного значения отношения Ca/белок. Увеличение количества вносимого в пастеризованное молоко хлористого кальция до 0,05% повышает влажность и ухудшает качественные показатели сыра.

Следует отметить, что молоко с низким абсолютным содержанием коллоидного P медленно свертывалось сычужным ферментом [1429].

Микроэлементы. Микроэлементы – это элементы, содержание которых в молоке составляет тысячные, максимум – сотые доли процента. Несмотря на низкое содержание, они играют важную роль в формировании пищевой ценности молока и регулировании химических и биологических процессов во время выработки и созревания сыров, так как являются компонентами, активаторами или ингибиторами многих энзимов. Содержание микроэлементов в молоке может существенно меняться в зависимости от кормления, стадии лактации, состояния здоровья коров и других факторов.

Имеются работы, указывающие на возможность повышения биохимической активности и стимуляции размножения молочнокислых и пропионовокислых бактерий путем обогащения молока определенными комбинациями микроэлементов и на этой основе ускорения созревания и улучшения качества сыров [1233, 1348, 1560, 1637, 1733]. В частности, весной в молоке может недоставать Mn, необходимого для жизнедеятельности лейконостоков. Это может привести к исчезновению рисунка в сырах, выработанных из весеннего молока [1285]. Данный порок весеннего молока можно исправить добавлением в молоко солей Mn (разд. 7.4.2) [677].

Содержание в молоке Fe находится в интервале от 10 до 1090 мг/кг [1285]. Такая большая вариабельность объясняется большими загрязнениями молока этим элементом после дойки. Высокое содержание железа в молоке нежелательно, так как Fe катализирует окисление жиров, стимулирует рост маслянокислых бактерий, может содействовать появлению цветных пятен на поверхности сыров.

Содержание в молоке Cu по результатам исследований до 1958 г. составляло от 30 до 2500 мкг/кг, в настоящее время чаще всего лежит в интервале 80–120 мкг/кг [1285]. Снижение содержания Cu в молоке скорее

всего связано с прекращением использования в молочной промышленности оборудования, изготовленного из содержащих Cu материалов.

Cu в молоке необходима для питания молодняка и жизнедеятельности участвующей в производстве сыров микрофлоры. Однако, если ее содержание превысит определенный уровень, то Cu становится токсичной, т. е. переходит из разряда необходимых элементов в группу токсичных металлов. Неоднозначно влияние Cu на качество сыра. Катализирующее действие Cu на окислительные процессы намного сильнее, чем Fe. В молоке с высокой концентрацией Cu быстро разрушаются витамин С и тиамин, играющий важную роль в образовании диацетила из цитратов [1285]. Диланян и Саакян [1348] считают оптимальной концентрацией Cu для жизнедеятельности молочнокислых бактерий в молоке 220 мкг/кг, что выше ее среднего уровня в молоке. В концентрации 0,03–0,4 мг/кг Cu стимулирует рост *Str. thermophilus* и *Lbc. lactis* [669].

Наличие в смеси для выработки сыров от 50 до 150 мкг/100 мл Cu не оказывает отрицательного влияния на развитие микрофлоры закваски, выработку и созревания сыра, но в значительной степени ингибирует рост маслянокислых бактерий [1300]. По-видимому, именно это служило главной причиной выработки крупных сыров в прежние времена в медных котлах. Эти концентрации Cu лежат на уровне предельно допустимых.

Установлены минимально необходимые концентрации некоторых микроэлементов в молоке для выработки Советского сыра (мг/л): Cu – не менее 0,5; Zn – 2,0: Co – 0,18; I – 0,2 [1560]. Zn в концентрации 2,0–6,5 мг/кг ускорял рост всех молочнокислых бактерий, применяемых в заквасках, за исключением *Lbc. helveticus* [669]. В Алтайском крае, где проводили выработки Советского сыра, содержание этих микроэлементов в зависимости от зоны (горная, предгорная, лесостепная и степная) и условий содержания скота (пастбищное, стойловое) составило (мг/л): Cu – 0,031–0,15; Zn – 0,56–1,37; Co – 0,045–0,145 и I – 0,037–0,152, т. е. было более низким, чем рекомендуемое.

Разработана технология сыра Горный с высокой температурой II нагревания, которая предусматривает внесение в молоко для ускорения созревания сыра смеси минеральных солей, содержащей в пересчете на чистые микроэлементы (мкг/л): Mn – 700, Zn – 640, Cu – 220 и Co – 25 [1233, 1637]. Сыр Горный созревает 2 мес.

В справочниках и обзорах приводятся несколько различающиеся данные о содержании микроэлементов в молоке, что обусловлено неодинаковыми объемами выборки при расчете средних величин и широкой вариабельностью этих показателей в зависимости от эколого-геохимических условий регионов. Однако приведенные выше показатели для оптимизации микроэлементного состава молока для сыроделия, как правило, выше верхних границ содержания того или иного микроэлемента в молоке нормального состава и поэтому не могут рассматриваться как показатели сыропригодности молока.

Токсичные металлы. С точки зрения безопасности сыра для здоровья потребителя большое значение имеет содержание в молоке тяжелых металлов. Одним из основных источников токсичных металлов в молоке являются корма. Степень перехода металлов из корма в молоко зависит от их вида: для Cd она равна 0,02%, Pb – 0,1% [1728]. Загрязнение кормов металлами особенно велико вблизи крупных промышленных предприятий, автострад. Так, в молоке с ферм, расположенных в 10 км от сталелитейных заводов в Новой Гуте (Чехия), содержалось в 10 раз больше Pb и Cd, чем в молоке с ферм в 20–25 км от заводов [240].

Медико-биологическими требованиями установлены предельно допустимые концентрации (ПДК) тяжелых металлов в молоке [1511]. В процессе выработки происходит концентрация металлов в сыре, что обусловлено тем, что большая часть тяжелых металлов в молоке связана с казеином. Отношения концентраций токсичных металлов в сырах и молоке, из которого их выработали, в зависимости от типа сыров составляют: Cu 5,0–11,0; Zn 5,3–11,0; Pb 3,7–8,4; Cd 4,0–6,7; Hg 4,0–5,7 [1693]. Степень концентрирования выше в твердых сырах с низкими и высокими температурами II нагревания по сравнению с рассольными и, особенно, мягкими сырами, что связано с особенностями их технологии, в частности с неодинаковой кислотностью сыворотки и сырной массы во время выработки сыра, различным содержанием сухих веществ.

Концентрирование микроэлементов в сыре свидетельствует о том, что оптимизацию содержания микроэлементов в молоке для выработки сыра нужно проводить по результатам их действия не в молоке, а непосредственно в сыре. Содержание микроэлементов в молоке должно обеспечить оптимальную скорость биохимических процессов в сыре во время его созревания. Поскольку концентрации микроэлементов в сыре возрастают по сравнению с их исходными концентрациями в молоке в 4–11 раз, исходные их концентрации в молоке должны быть ниже оптимальных уровней микроэлементов для развития необходимой микрофлоры в соответствующее число раз.

С другой стороны, ПДК тяжелых металлов в сыре должны быть такими, чтобы дать возможность вырабатывать из молока с допустимым содержанием тяжелых металлов продукт, соответствующий медико-биологическим требованиям, т. е. ПДК в сыре должны быть намного выше, чем в заготовляемом для сыроделия молоке. Медико-биологические требования предусматривают увеличение ПДК токсичных металлов в сыре по сравнению с молоком: для Pb и Cd в 3,0 и 3,3 раза, для As, Hg и Cu – в 4 раза, для Zn – в 10 раз. Такое увеличение не соответствует степени концентрации токсичных металлов в сыре, поэтому из молока с концентрацией токсичных металлов ниже ПДК могут вырабатываться сыры, неудовлетворяющие Медико-биологические требования по этому показателю. Так в сырах, выработанных из молока, содержание тяжелых металлов в котором равнялось ПДК, содержание меди составило 213%, свинца – 280% от ПДК для сыров [1695].

7.2.7. Микотоксины

Молоко может быть загрязнено микотоксинами, присутствие которых в сыре в концентрации выше определенного уровня угрожает здоровью потребителей. В настоящее время известно более 200 токсичных метаболитов плесневых грибов. Наибольшую опасность из них в молоке и сырах представляют афлатоксины B_1 и M_1. Афлатоксины образуются плесневыми грибами *Aspergillus flavus*. B_1 – самый сильный из природных канцерогенов. Он обнаруживается в силосе, концентрированных кормах, в которых размножались плесени, и вместе с кормами попадает в организм коровы. В организме коровы афлатоксин B_1 трансформируется в афлатоксин M_1, который выделяется с молоком. Содержание M_1 в молоке соответствует количеству афлатоксина B_1, потребленному коровой с кормом, согласно уравнению: $M_1 = B_1^{0.834}$ [758]. По другим данным, в молоко переходит 1–3% афлатоксина, содержащегося в корме [1728, 1729]. Анализ литературных данных показывает, что содержание афлатоксина M_1 в молоке варьирует в пределах от 0 до 37,34 нг/кг, причем зимой он обнаруживается чаще и в более высоких концентрациях, чем летом, что, очевидно, обусловлено составом кормов в стойловый и пастбищный период [843, 1729].

При переработке молока около 50% токсина M_1 переходит в сыр, степень перехода зависит от технологии сыра [1046, 1171]. Суммарное количество афлатоксина M_1 в сыре и сыворотке превышает исходное содержание в молоке, что показывает на его образование или активизацию во время выработки сыра [1171]. Во время хранения сыров при 4 и 17–26° С в течение 2 мес содержание афлатоксина M_1 в них практически не изменилось.

ПДК M_1 в молоке в одних странах (Нидерланды, Швейцария, Швеция) равна 0,05 мкг/л, в других (США, Германия) – 0,5 мкг/кг в сырах – 10–20 мкг/кг [270, 332, 569, 838, 943, 1115]. В России содержание афлатоксина M_1 в молоке должно быть не выше 0,5; B_1 – не выше 1 мкг/кг [1511].

В Великобритании корма для лактирующих коров должны содержать не более 20 мкг/кг афлатоксина B_1 (что соответствует не более 0,1 мкг афлатоксина M_1 в кг молока), в Дании – не выше 5 мкг/кг [1022, 1300]. С гигиенической и экономической точек зрения, контроль содержания афлатоксинов и пестицидов более целесообразен в кормах, чем в молоке, хотя он и не исключает выборочного контроля молока по этим показателям.

7.2.8. Пестициды

Пестициды – вещества или смеси веществ, которые применяют в сельском хозяйстве для борьбы с вредителями (сорными растениями, возбудителями заболеваний растений и животных), регуляции роста растений, в качестве дефолиантов, дессикантов [420]. Они играют важную роль в повышении производительности труда, и их применение, а

следовательно, и загрязнение пестицидами окружающей среды увеличивается.

В 1979 г. насчитывалось около 800 видов пестицидов, которые по назначению делили на несколько групп: гербициды, фунгициды, фасциолициды, инсектициды, акарициды, паразициды и др. [420, 1400]. Из окружающей среды, преимущественно с кормами, пестициды попадают в организм коровы, из которого некоторые могут в неизмененном виде переходить в молоко. Степень перехода пестицидов из кормов в молоко зависит от типа пестицидов: так, из хлорорганических пестицидов переходит до 40% алдрина и диелдрина корма, а метоксихлор практически вообще не переходит в организм коровы даже при высоком содержании в корме. Наиболее опасны для сыроделия хлорорганические пестициды, которые накапливаются в почве и жировых тканях животного, очень медленно трансформируются в нетоксичные соединения, как правило, поступают в больших количествах в молоко и почти не разрушаются в процессе переработки молока в сычужные сыры [1400]. Правда, имеется сообщение о способности микрофлоры рубца разрушать гексахлорциклогексан и его производные, но эта способность вряд ли успевает реализоваться в организме коровы, поскольку уже через 6 ч после перорального введения ГХЦГ корове он обнаруживается в молоке [1729].

Представители второй многочисленной группы пестицидов – органофосфаты – быстро разрушаются в окружающей среде и организме животного и в существенных количествах не попадают в молоко [686, 1729]. При скармливании коровам диметоата в количестве 0,5 и 0,05 мг/кг живого веса в течение 14 дней этот пестицид в молоке не обнаруживался. При скармливании коровам силоса, загрязненного имиданом или бидрином, из расчета их поступления в организм коровы соответственно 0,22 и 0,25 мг/кг живого веса, в молоке обнаруживали 0,002 мг/кг этих пестицидов.

Опасность загрязнения молока пестицидами, в том числе и фосфорными, увеличивается при их введении непосредственно в корма, хранении кормов в помещениях, обработанных пестицидами, особенно методом распыления, применении пестицидов для обработки животных. Так, после опрыскивания коров 0,05% эмульсией циодрина (кротоксифоса) он появился в молоке, но спустя 168 ч снова перестал обнаруживаться; после обрызгивания коров однопроцентным раствором хлорофоса через 7 дней в молоке обнаружили 0,08 мг/л этого пестицида [1400].

Возможно попадание пестицидов в молоко после выхода его из вымени (постсекреторное загрязнение) вместе с частицами почвы, кормов, навоза, с кожных покровов животных, обработанных пестицидами. В этом случае в молоко могут попадать любые пестициды, в том числе органофосфорные.

Переход пестицидов из организма коровы в молоко и сыр зависит от типа пестицидов и ряда других факторов. Хлорорганические пестициды переходят в молоко в количестве от единиц (гептахлор) до 20–30 (диелдрин; р, р'-ДДЭ; ГХБ) процентов от суточного потребления коровой.

Среднее и максимальное содержание хлорорганических пестицидов в молоке и сыре по 21 стране в 1962–1975 гг. составляло (мг/кг жира): ДДТ + + изомеры и метаболиты – 0,05 (до 250) и 0,06 (до 0,5); диелдрин – 0,037 (до 0,375) и 0,05 (до 0,3); ГЦХГ – 0,15 (до 2,5) и 0,06 (до 0,6) [984]; по другим данным: для линдана – 0,13; хлордана – 0,03; метоксихлора – 0,005 [1400]. Исследования во Франции в 1980 г. показали, что в сыром молоке в среднем содержится (мг/кг жира) α-ГХЦГ – 0,018; β-ГХЦГ – 0,026; линдана – 0,047; α-ГХЦГ эпоксид гептахлора – 0,017; диелдрина – 0,022; ГХБ – 0,024; ДДЭ – 0,011 [1503]. Авторы делают вывод о снижении степени загрязнения молока хлорорганическими пестицидами начиная с 1970 г., что обусловлено ограничением применения этой группы пестицидов. Степень загрязнения молока пестицидами варьирует в широких пределах в зависимости от степени химизации сельского хозяйства, типов почв, климата, гигиенических условий получения молока.

При переработке на творог в готовом продукте перестали обнаруживаться ГХЦГ с изомерами, содержащиеся в исходном молоке в концентрации 0,03–0,18 мг/кг, но не ДДТ, содержание которого в молоке и в выработанном из него твороге было сопоставимо и не превышало ПДК [1746]. Однако эти данные нельзя переносить на производство твердых сычужных сыров из-за различий в pH сгустка и сыворотки, играющего важную роль в массообмене между сгустком и сывороткой.

Большинство, а скорее всего, все пестициды токсичны для человека. Так, например, $ЛД_{50}$ (мг/кг веса) для хлорорганических пестицидов в зависимости от их вида находится в интервале от 5000 (метоксихлор) до 50 (алдрин), а допустимая дневная доза – от 0,1 (метоксихлор) до 0,0001 (алдрин, диелдрин) [984]. Большей токсичностью обладают органофосфорные пестициды [686].

После перорального применения некоторых фасциолицидов (никлофолан) для лечения коров наблюдается резкое увеличение времени сычужного свертывания молока [419].

Исследовано влияние хлорорганических пестицидов на рост некоторых важных для сыроделия микроорганизмов, включая молочнокислые бактерии [926]. Установлено, что ДДТ, диелдрин, ендрин, хлордан, гептахлор ингибируют размножение и биологическую активность 9 испытанных видов бактерий значительно сильнее в бульоне, чем в обезжиренном молоке. Так, кислотообразование молочнокислыми бактериями было ингибировано 5 мг/кг хлордана и гептахлора в бульоне, но не 100 мг/кг этих и других пестицидов в обезжиренном молоке. Рост молочного лактококка был ингибирован 3,0 мг/кг β-ГХБ или 2 мг/кг p_1, p-ДДТ [669].

Содержание пестицидов в пищевых продуктах нормируется. Медико-биологическими требованиями установлены следующие ПДК (мг/кг в пересчете на жир) пестицидов в молоке: гексохлоран – 1,25; ГХЦГ, γ-изомер – 1,25; ДДТ – 1,0 [1511]. Наличие 46 других пестицидов в молоке не допускается, т. е. они не должны выявляться установленными для их

определения методами. В сырах и творожных изделиях допускается в пересчете на кг жира, в мг, не более: гексахлорана – 1,25, линдана – 1,25, ДДТ – 1,0. Для сравнения укажем ПДК пестицидов в молочных продуктах в бывшей Чехословакии (мг/кг жира): ДДТ – 1,25; ГХБ – 0,5 [1544].

7.2.9. Нитраты

Согласно кодексу питания ФАО/ВОЗ в молоке для производства сыра должно быть не более 200 мг/кг нитратов [979]. Допустимое суточное потребление нитратов установлено ФАО/ВОЗ на уровне 5 мг/кг веса тела. В Италии в сыром молоке допускается не более 2 мг/кг ионов нитратов [1704].

Массовые исследования закупаемого молочной промышленностью молока показывают, что содержание в нем нитратов не превышает установленных нормативов. Исследованиями в Московской области обнаружены нитраты в 14% проб молока в количестве 7,3–8,0 мг/кг, Молдавской ССР – 2,95–4,65 мг/кг, в молоке, поступающем на Угличский завод, в среднем содержалось 0,44 мг/кг нитратов. Низкое содержание нитратов в молоке свидетельствует о небольшом количестве минеральных азотистых удобрений, вносимых в почву. Большое их количество может содержаться в корнеплодах (свекле, моркови, картофеле, капусте и др.). Использование для лактирующих коров кормов, выращенных на участках с избытком азотных удобрений, приводит к увеличению содержания нитратов в молоке [1704].

При выработке сыров в молоко вносят 100–300 мг/л нитратов для подавления развития маслянокислых бактерий. Учитывая тот факт, что большинство нитратов молока при выработке сыра остается в сыворотке, а остающиеся в сыре нитраты преимущественно восстанавливаются в безвредные продукты (рис. 6.17), делается вывод о необоснованности возражений против их использования в сыроделии в дозе до 20–30 г на 100 кг молока [421, 885, 1694]. Допустимую дозу нитратов, вносимую в молоко для выработки сыра, в нашей стране предлагается снизить с 30 до 20 г/100 кг [1694].

Из приведенного анализа видно, что нецелесообразно в качестве одного из критериев сыропригодности молока брать содержание в нем нитратов, которое ниже, чем используемые в сыроделии дозы селитры, и вреда качеству сыра и здоровью потребителей не приносят.

7.2.10. Ингибиторы роста микроорганизмов

Антимикробиальные факторы молока следует разбить на две группы: природные, образуемые в организме матери для защиты новорожденных от инфекций, в особенно больших количествах в период, когда его собственные защитные системы не успели до конца сформироваться, и инородные, попадающие в молоко из окружающей среды через организм коровы (секреторное загрязнение) или после его выхода из вымени (постсекреторное загрязнение).

Природные антибактериальные системы молока

Идентифицированы пять основных антимикробиальных факторов молока: лизоцим, лактоферрин, лактопероксидазная система, иммуноглобулины и связывающие витамины протеины [476].

Лизоцим. Лизоцим коровьего молока термоустойчив: при 100° С в течение 20 мин в кислой среде его активность снижается только на 43%. В молоке здоровых коров содержится около 0,1 мкг/мл лизоцима; в маститном молоке его концентрация повышается до 1–2 мкг/мл. В женском молоке содержится до 100 мкг/мл лизоцима [317].

Лактоферрин. Лактоферрин – связывающий железо протеин [876]. В коровьем молоке содержится 0,35–0,02 мг/мл лактоферрина (в женском молоке – 2–4 мг/мл), в маститном молоке и молозиве его содержание возрастает в 20–30 раз. Лактоферрин, связывая железо, подавляет размножение микроорганизмов, нуждающихся в этом элементе, не препятствуя его усвоению тканями молочной железы. Лактоферрин связывает железо только в присутствии бикарбонатов. Цитраты, наоборот, отнимают ионы железа от лактоферрина, снижая или полностью ликвидируя его антибактериальное действие. Кроме непосредственного действия на бактерии, лактоферрин участвует в формировании специфических защитных систем организма. По-видимому, главной его функцией является защита молочной железы в сухостойный период, поскольку в молоке из-за присутствия цитратов роль его незначительна.

Лактоферрин ингибирует развитие БГКП, но не молочнокислых бактерий, которые в железе практически не нуждаются. Некоторые бактерии, в т. ч. патогенные, синтезируют низкомолекулярные соединения – сидерофоры, связывающие железо более прочно, чем лактоферрин, и переносящие его в клетки, что снижает действие лактоферрина in vitro.

Лактопероксидазная система (ЛП-система). ЛП катализирует окисление перекисью водорода присутствующих в молоке тиоцианатов с образованием токсичных для микроорганизмов промежуточных продуктов. Эти продукты окисляют SH-группы, играющие важную роль в мембранах бактериальных клеток, и тем самым ингибируют рост микроорганизмов или уничтожают их. ЛП-система действует на многие грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы, в том числе на молочнокислые бактерии. Внесение компонентов ЛП-системы в пастеризованное при высокой температуре молоко, охлажденное и инокулированное $10–10^4$ КОЕ/мл *List. monocytogenes*, привело к гибели клеток листерий через 5 сут при 5° С и 8 сут при 8° С. Бактериостатическое действие ЛП-системы на листерии продолжается в течение 6 ч при 30° С, 20 ч при 20° С и 100 ч при 8° С [88].

Из трех элементов системы – лактопероксидаза, тиоцианаты и перекись водорода – лактопероксидаза в коровьем молоке всегда имеется в достаточном количестве (от 2 до 50 мг/л в зависимости от стадии лактации). Тиоцианаты присутствуют в молоке в зависимости от рационов кормления в количестве до 10–15 мг/л (обычно 2–7 мг/л) и могут быть

лимитирующим активность системы фактором [473]. Перекись водорода всегда является лимитирующим фактором. Источником ее являются сами микроорганизмы, в том числе молочнокислые бактерии, которые при наличии в молоке кислорода образуют определенное количество перекиси водорода и тем самым как бы запускают в действие всю систему [476, 1326].

Иммуноглобулины (Ig). В 1957 г. Wright & Tramer обнаружили так называемые агглютины, под воздействием которых клетки чувствительных к ним штаммов лактококков вступают в ассоциацию с жировыми шариками и поднимаются вместе со сливками в цельном молоке или агглютинируют друг с другом и осаждаются в обезжиренном молоке [476]. После выдержки молока до 90% клеток чувствительных штаммов оказывается в сливках или в осадке, в результате чего кислотообразующая активность заквасок снижается. Ингибирование кислотообразования обусловлено тем, что в сливках или в осадке из-за высокой локальной плотности клеток повышается кислотность и бактерии скоро перестают размножаться. Для осаждения бактериальных клеток в обезжиренном молоке, инокулированном 1% закваски, требуется около 3 ч. Вместе со сливками отделяются не только клетки, но и бактериальные споры.

Агглютины являются иммуноглобулинами (Ig). Иммуноглобулины попадают в молоко из крови матери или образуются самой молочной железой [317, 476]. Образование Ig в молочной железе индуцируют антигены из кишечника коровы, бактерии, попадающие в железу через сосковый канал.

В молоке обнаружены IgA, IgG1 и IgG2, IgM в концентрации (мг/мл) соответственно 0,59; 0,2; 0,1 и 0,05; в молозиве – 47,6; 2,9; 3,9 и 4,2 [476]. Активным фактором в агглютинации бактериальных клеток является IgM. Различные штаммы лактококков агглютинируются разными иммуноглобулинами, что свидетельствует о специфичности последних. Ig действуют на клетки не только лактококков, но и других видов бактерий.

Протеины, связывающие витамины. Молоко содержит протеины, способные связывать витамин B_{12} и фолиевую кислоту [476]. В свою очередь, представители кишечной микрофлоры способны усваивать в молоке только свободные витамины. Наличие в молоке таких протеинов ингибирует рост бактерий, неспособных синтезировать фолиевую кислоту и витамин B_{12}.

Значение природных антибактериальных факторов молока в сыроделии. Природные ингибиторные системы обусловливают бактерицидную фазу молока, во время которой микрофлора не только не размножается, но даже может уменьшаться в количестве. Бактерицидная фаза обеспечивает определенную стойкость молока после дойки. Чем продолжительнее бактерицидная фаза, тем дольше молоко будет сохранять свое бактериальное качество. Подавление развития микрофлоры сопровождается утилизацией природных ингибиторов, поэтому чем более загрязнено молоко микроорганизмами и чем выше температура его хранения, тем короче бактерицидная фаза.

Для активизации ЛП-системы как альтернативы охлаждения молока в него добавляют 10–15 мг/л тиоцианатов и эквивалентное количество перекиси водорода (до примерно 0,25 мМ) [1179, 1326]. В зависимости от степени бактериальной обсемененности молока активизация ЛП-системы позволяет сохранить его свойства в течение 16–26 ч хранения при 15–20° С.

На рис. 7.1 показано бактерицидное действие ЛП-системы на грамотрицательные бактерии в среде, содержащей 1,5 мкг/мл ЛП, 0,15–0,30 мкг/мл SCN^- и 0,10 мкг/мл глюкозооксидазы (для образования H_2O_2) [877].

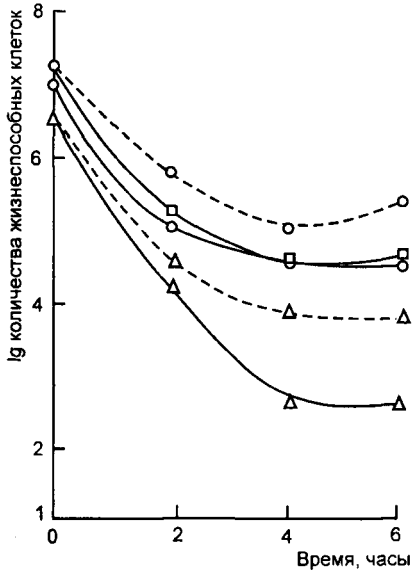


Рис. 7.1. *Бактерицидное действие ЛП-системы на некоторые грамотрицательные бактерии: E. coli 0101* Δ- - -Δ *(0,15 мМ SCN^-);* Δ——Δ *(0,30 мМ SCN^-); P. aeruginosa* o- - -o *(0,15 мМ SCN^-);* o——o *(0,30 мМ SCN^-); S. typhimurium* —— *(0,15 мМ SCN^-)*

Египетские ученые использовали лактопероксидазную систему для обработки молока в производстве рассольного сыра Домиати [877]. Они вносили в молоко H_2O_2 в количестве 200–250 мг/кг или смесь SCN (14 мг/кг) и H_2O_2 (30 мг/кг) с повторным внесением через 4 ч еще 30 мг/кг H_2O_2, после чего вырабатывали сыр по обычной технологии. Подобная обработка увеличивала время свертывания и несколько снижала выход сыра. Качество сыров, вырабатываемых из такого молока, было не очень высокого, но приемлемого уровня.

Около 55% активности лактопероксидазы сохраняется в молоке после пастеризации при 72° С в течение 15 с (Hill et al., 1977) [476]. Следовательно, ЛП-система должна действовать и в пастеризованном молоке.

Stadhouders установил, что скорость кислотообразования 10 мезофильных заквасок в течение 6 ч при 30° С в пастеризованном молоке при 72° С, 15 с была на 14–90% ниже, чем в молоке, пастеризованном при 95° С в течение 30 с (при этом режиме пастеризации ЛП полностью

дезактивируется и ЛП-система перестает функционировать) [476]. Добавление ЛП к молоку, пастеризованному при 95° С, снижало кислотообразующую активность заквасок до уровня, характерного для молока, пастеризованного при 72° С в течение 15 с. Этот опыт говорит о сохранении активности ЛП-системы в молоке, пастеризованном при установленном в сыроделии режиме. В результате этого опыта была также установлена разная чувствительность заквасок к действию этой системы, что может быть обусловлено неодинаковой активностью NADH H_2O_2 оксидазы у штаммов лактококков, входящих в закваски, а от ее активности зависит количество образуемой микроорганизмами H_2O_2. Одна из испытанных заквасок в присутствии ЛП не снизила, а повысила скорость кислотообразования. Возможно, микрофлора этой закваски вообще не образовывала свободной H_2O_2, а ЛП дезактивирует какие-то перекисные продукты, имеющиеся в молоке, и тем самым стимулирует рост и кислотообразующую активность этой закваски.

Молоко оказывает комплексное влияние на активность заквасок, обусловленное взаимодействием ЛП-системы, термостабильных стимуляторов и термолабильных SH-соединений. SH-факторы стимулируют рост и кислотообразующую активность микрофлоры заквасок, ослабляют ингибирующее действие ЛП-системы. Поэтому могут быть закваски, нечувствительные к ЛП-системе в сыром молоке и молоке, подвергнутом низкотемпературной пастеризации, не разрушающей SH-соединения, но чувствительные к этой системе в молоке после высокотемпературной пастеризации, разрушающей SH-соединения, при внесении в него после пастеризации ЛП.

Ингибирование размножения и кислотообразования мезофильных заквасок в пастеризованном молоке ЛП-системой может произойти только в том случае, если пастеризовали незрелое молоко, так как во время созревания молока тиоцианаты – необходимый элемент этой системы – окисляются.

В пастеризованном при 72° С, 15 с молоке сохраняют активность иммуноглобулины, обработка молока при 78° С, 15 с полностью их дезактивирует. Внесение в молоко молокосвертывающих энзимов сразу после внесения закваски предотвращает агглютинацию. Следовательно, активизация закваски путем 1–2-часовой выдержки в молоке до добавления молокосвертывающих энзимов может привести к противоположным результатам при наличии в закваске штаммов молочнокислых бактерий, чувствительных к Ig молока. Агглютинация также возможна при созревании молока с закваской в производстве кисломолочных сыров без применения или с ограниченным применением молокосвертывающих энзимов. Возможность агглютинации микрофлоры закваски следует учитывать при проведении пробы на ее активность: в производстве сычужных сыров ее целесообразно проводить в молоке с добавлением молокосвертывающих энзимов, в производстве кисломолочных сыров – в молоке без энзимов и в высоком слое.

Лизоцим, лактоферрин и белки, связывающие витамины, вряд ли могут оказать ингибиторное действие на микрофлору мезофильных заквасок, поскольку в нормальном коровьем молоке концентрация лизоцима очень низкая, а в железе, фолиевой кислоте и витамине B_{12} лактококки не нуждаются. Положение может измениться при большом содержании маститного молока в сборном, что связано с высоким содержанием лизоцима в маститном молоке. В связи с термоустойчивостью и высокой концентрацией в маститном молоке лизоцима попадание маститного молока в сборное может привести к фальшивым положительным результатам при анализе молока на наличие инородных ингибиторов бактериальными методами. 53,6% молока от маститных коров ингибировали рост *Bacillus stearothermophilus* – тест-культуры для определения ингибиторов в молоке [476]. Лактоферрин стимулировал это ингибиторное действие. Большого практического значения это не имеет, потому что сборное молоко с высоким содержанием маститного молока содержит большое количество соматических клеток и должно браковаться как сырье для выработки сыра. Однако проверку молока на содержание инородных ингибиторов следует делать параллельно с определением содержания соматических клеток. При положительной пробе на ингибиторы и наличии больше 500 тыс./мл соматических клеток нельзя сделать однозначный вывод о загрязнении молока инородными для него ингибиторами.

Влияние природных антибактериальных факторов на термофильные закваски изучено недостаточно. По-видимому, *Str. thermophilus* не чувствителен в чистой культуре к ЛП-системе, так как он не образует перекиси водорода. Однако этот вид используют в составе заквасок совместно с *Lbc. helveticus*, *Lbc. bulgaricus* и *Lbc. lactis*, которые образуют перекись водорода и ингибируются ЛП-системой. Возможно, в составе закваски термофильный стрептококк также будет ингибироваться этой системой.

Неприродные ингибирующие соединения в молоке

Неприродные ингибирующие вещества попадают в организм лактирующей коровы, а из него в молоко, чаще всего из кормов или в результате инъекции при лекарственной терапии. После инъекции в молочную железу антибиотики обнаруживаются в молоке из обработанной доли вымени в течение 214 ч, а в сборном молоке – в течение 168 ч [1768]. Они могут также образовываться микроорганизмами, размножающимися в молоке. В качестве примера может служить образование в молоке некоторыми штаммами *Lc. lactis* термоустойчивого антибиотика низина. Ингибирующие вещества могут попадать в молоко при неудовлетворительном ополаскивании оборудования и молокопроводов после дезинфекции.

Наличие в молоке ингибиторов снижает скорость развития микрофлоры, применяемой в производстве сыров и кисломолочных продуктов, что создает более благоприятные условия для размножения болезнетворных и технически вредных бактерий. При этом ингибирующее

действие антибиотиков – наиболее часто встречающихся в молоке представителей этой группы ингибиторов – на вредную микрофлору гораздо слабее, чем на необходимую. Причинами этого являются наличие среди «дикой» микрофлоры штаммов, обладающих устойчивостью к широкому спектру лекарственных веществ, а также устойчивостью грамотрицательных бактерий к антибиотикам, применяемым для борьбы с возбудителями маститов, большинство которых являются грамположительными микроорганизмами.

Str. thermophilus и *Lbc. helveticus* чувствительны к содержанию в молоке 0,002–0,01 ед/мл пенициллина [669].

Ингибирующие вещества из молока и молочных продуктов попадают в организм человека и могут нанести ущерб здоровью следующими путями: иммунно-патологическим – вызвать аллергию к соответствующим лекарственным веществам; микробиологическим – вызвать появление в кишечнике устойчивых к лекарствам штаммов болезнетворных бактерий; фармаколого-токсикологическим. При этом следует учесть, что антибиотики, например пенициллин, адсорбируются казеином, поэтому их концентрация в сырах и твороге будет выше, чем в исходном молоке. Наиболее опасными являются пенициллины, способные вызывать аллергию в дозах, которые встречаются в молоке [61]. Описан случай заболевания крапивницей при потреблении молока, содержащего 0,4 ед/мл пенициллина.

Загрязнение молока ингибирующими веществами искажает результаты редуктазной и бродильных проб и может повлиять на результаты фосфатазной и пероксидазной проб [300].

ГОСТ на закупаемое молоко запрещает переработку на пищевые цели молока, загрязненного ингибирующими веществами. Медико-биологическими требованиями установлены следующие ПДК для антибиотиков в молоке: пенициллин и тетрациклиновая группа – не более 0,01 ед/г, стрептомицин – не более 0,5 ед/г [1511].

Наибольшую опасность для потребителей и производства представляют ингибиторы, не разрушаемые тепловой обработкой молока, к которым относятся многие антибиотики. Так, активность пенициллина после выдержки молока при 85° С в течение 5 мин снижается только на 8–17% [1105].

Учитывая громадное значение присутствия ингибиторов в молоке для технологического процесса, органолептических показателей и безопасности сыра, в большинстве стран при их обнаружении плата за молоко в течение двух недель снижается на значительную сумму. Существует так называемая «телефонная премия», которой награждаются поставщики молока, сообщающие на молокозаводы о возможном наличии в поставленной ими партии молока ингибиторов (при лечении или прививках коров).

7.2.11. Энзимы молока

В молоке обнаружено 60 различных энзимов. Их можно разбить на три группы: природные энзимы молока; энзимы, высвобождающиеся из

соматических клеток; энзимы, образуемые микрофлорой в молоке после его выхода из вымени. Содержание энзимов в молоке зависит от стадии лактации, здоровья животных, кормления. Только небольшая их часть детально изучена [394, 524, 953, 1223, 1593]. Природные энзимы молока могут влиять на процессы выработки, качество и выход сыра, изменяя химический состав молока во время его созревания и хранения и участвуя в биотрансформации компонентов молока во вкусовые и ароматические соединения непосредственно в сыре. Сыры из сырого молока часто имеют более выраженный вкус, чем сыры из пастеризованного молока, что обычно объясняют участием природных энзимов молока в формировании сырного вкуса.

Считалось, что большинство природных энзимов молока инактивируется во время пастеризации молока, поэтому их роль в производстве сыров из пастеризованного молока признавалась незначительной [1223]. Эта точка зрения требует уточнения.

Основной природной протеазой молока является плазмин – щелочная протеаза, разрывающая связь Лиз-Х, обусловливающая образование в молоке γ-казеина и протеозо-пептонной фракции, действующая преимущественно на β-казеин [394, 953, 1223, 1593]. Оптимальные для действия плазмина температура и pH равны 37° С и 8,0; он сохраняет достаточно высокую активность в интервале pH от 5 до 9 [1593].

Как и большинство энзимов молока, плазмин попадает в него из крови. Плазминовая система крови включает собственно плазмин, его предшественник – плазминоген, в форме которого находится большая часть плазмина, ингибиторы и активаторы плазминогена, проактиваторы и ингибиторы активаторов. Большинство, а возможно, и все элементы этой системы есть и в молоке. Плазминоген, плазмин и активаторы плазминогена в молоке связаны с мицеллами казеина, что в определенной степени повышает их стабильность во время тепловой обработки молока [394]. Для полной инактивации плазминной системы в молоке нужна гораздо более жесткая тепловая обработка, чем пастеризация по допустимому в сыроделии режиму (72–75° С, 15–25 с). До 20% активности плазмина сохраняется после его выдержки при 70° С в буфере с pH 7 в течение 10 мин, а полная инактивация наступает после 10 мин выдержки при 80° С [953, 1593]. Пастеризация молока в сыроделии снижает активность плазмина примерно на 20% [378]. Интересно, что активность плазмина в молоке резко снижается сразу после пастеризации, но при хранении молока она снова увеличивается и может превысить исходный ее уровень в сыром молоке [575, 893]. Richardson объясняет это разрушением во время пастеризации плазмина и веществ, ингибирующих действие активаторов, последнее приводит к увеличению плазминогенной активности во время хранения пастеризованного молока [893]. Снижение активности плазмина во время пастеризации может быть обусловлено денатурацией части β-лактоглобулина с последующей индуцированной нагреванием агрегацией денатурированного β-лакто-

глобулина с энзимной системой [394]. Во время созревания молока комплексы денатурированного β-лактоглобулина с энзимной системой могут разрушаться с восстановлением активности энзима.

Свойства плазминной системы свидетельствуют об ее участии в протеолизе во время созревания сыров. Наибольшую роль плазмин играет в крупных сырах из-за более высокого уровня pH и продолжительного созревания этих сыров, а также дезактивации молокосвертывающих энзимов во время II нагревания [607, 1593]. Это влияет на специфичность протеолиза в этих сырах, поскольку молокосвертывающие энзимы во время созревания сыров преимущественно атакуют α-казеин [376], а плазмин – β-казеин. Активность плазмина возрастает к концу лактации [251].

Во время созревания Чеддера в нем появляются продукты протеолиза типа γ-казеина, что свидетельствует об участии в протеолизе плазмина (Creamer, 1975) [1593]. В сыре Гауда, выработанном в асептических условиях, т. е. без участия микроорганизмов, через 6 мес созревания в результате действия протеаз молока количество растворимого азота увеличилось на 3,0–3,5%, что составляет около 12% общего протеолиза в обычных сырах (Visser, 1977) [1593]. К сожалению, роль плазмина в созревании сыров изучена недостаточно.

В молоке обнаружена также кислая протеиназа (катепсин Д), для которой оптимальный pH равен 4,0, температура – 50° С [1199, 1223, 1593]. Источником катепсина Д могут быть лейкоциты [378]. Полная инактивация кислой протеиназы происходит при 70° С в течение 10 мин. Наиболее активно кислая протеиназа расщепляет α-казеин. Роль кислой протеиназы молока в созревании сыра из пастеризованного молока не выявлена.

Протеиназная активность молока возрастает при заболевании коров маститом [555]. Это вызвано увеличением содержания соматических клеток и плазмина.

Липаза молока проявляет максимальную активность при pH 9, полностью теряет активность после пастеризации при 70° С в течение 15 с [378] и не влияет на созревание сыров из пастеризованного молока, в сырах из сырого молока – 15–29% расщепленных липидов можно отнести на ее счет [953, 1593]. Однако липаза молока может вызывать частичный липолиз в молоке до пастеризации в случае интенсивного механического воздействия или аэрации и тем самым вызвать появление прогорклого вкуса сыра (Reiter et al., 1968) [1593]. Это особенно вероятно при переработке молока с высоким содержанием соматических клеток, липолитическая активность которого значительно выше, чем молока с нормальным ССК [556].

Лактопероксидаза молока довольно устойчива к нагреванию (разрушается при 85° С за 10 с); она играет основную роль в ЛП-системе [476].

Возможно, какую-то роль в созревании сыров играет кислая фосфатаза молока, полностью инактивируемая при 80° С, дефосфорилирующая

казеин и делающая его более доступным для протеиназ [953, 1593]. В зависимости от направленности, усиление протеолиза может ускорять созревание сыра и/или способствовать появлению горького вкуса.

7.2.12. Соматические клетки

Соматические клетки – это любые клетки макроорганизма, кроме половых. В 1 мл нормального молока содержится от 100 до 300 тыс. соматических клеток, из которых до 90% составляют эпителиальные клетки, не более 8% – полиморфноядерные лейкоциты и лимфоциты и около 1% – макрофаги [317, 476]. В сборном молоке с примесями молозива, маститного, стародойного молока, т. е. в анормальном молоке, количество соматических клеток повышается в зависимости от количества примесей до 1–10 млн./мл за счет форменных элементов крови, защищающих новорожденных и мать от инфекции [488]. Поступление форменных элементов крови в молоко обусловлено увеличением проницаемости стенок кровеносных сосудов и тканей вымени при маститах. Повышенное количество соматических клеток в молоке является показателем ненормального состояния животного, связанного или с заболеванием, или с наступлением последней стадии беременности и рождением детеныша.

Наличие в молоке из отдельной доли вымени менее 500 тыс./мл соматических клеток при отсутствии патогенных бактерий свидетельствует о нормальной секреции, при наличии патогенов – о скрытой инфекции [1261]. В молоке от стада, состоящего менее чем из 30 коров с удовлетворительным состоянием вымени, количество соматических клеток должно быть не более 375 тыс./мл.

В молоке анормального состава, наиболее легко контролируемым показателем которого служит высокое содержание соматических клеток (ССК), изменяется состав белковой фракции молока (табл. 7.5). Снижается отношение казеина к общему белку. В молоке с ССК 200 тыс./мл это отношение равнялось 0,73, с 700 тыс./мл – 0,59 [720]. Снижается абсолютное содержание казеина. Увеличение ССК в молоке с 250 тыс./мл до 1 млн./мл сопровождалось снижением абсолютного содержания казеина на 10–20% в зависимости от породы коров (Olson, 1978) [617]. Снижение содержания казеина в молоке компенсируется повышением содержания сывороточных белков за счет диффузии в молоко глобулинов и иммуноглобулинов из крови, так что общее содержание белков в анормальном молоке может быть не ниже, чем в нормальном [154, 968].

Изменение состава белков молока при заболевании коровы или сразу после отела биологически целесообразно, потому что казеин выполняет только питательные функции, а сывороточные белки, кроме этого, защищают организм новорожденных от инфекций. Новорожденные в первый период жизни не имеют собственных защитных систем, которые формируются спустя какое-то время после отела, поэтому они особенно нуждаются в экзогенных средствах защиты от инфекций, которые получают с молоком матери. Содержание некоторых других компонентов в молоке с различным ССК показано на рис. 7.2 [422].

7.5. Содержание соматических клеток и состав белков в молоке **[1261]**

Состав белков, %	Число клеток, тыс./мл		
	250	500–1000	>1000
Общее содержание белка	3,61	3,59	3,56
Казеин	2,79	2,65	2,25
Сывороточные белки	0,82	1,10	1,31
α_{s1}-казеин	1,33	1,09	0,85
β-казеин	1,06	0,92	0,65
$\varkappa$-казеин	0,16	0,20	0,19
β-лактоглобулин	0,25	0,31	0,22
α-лактальбумин	0,28	0,30	0,23
Сывороточный альбумин	0,15	0,23	0,35
Иммуноглобулин	0,14	0,26	0,51

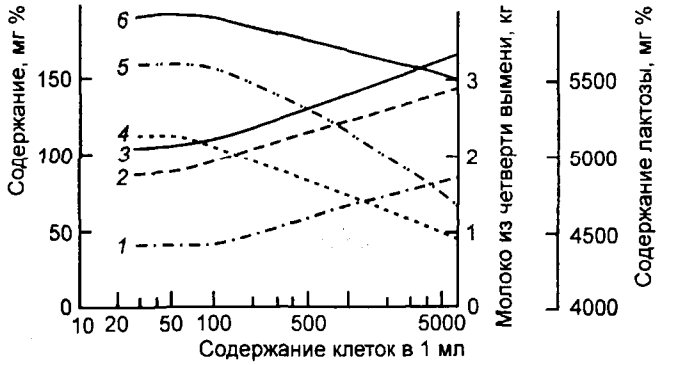


Рис. 7.2. *Зависимость между содержанием соматических клеток и различных составных частей молока и выделяемым количеством молока (1 – натрий; 2 – хлориды; 3 – сывороточный азот; 4 – количество молока, полученное из четверти вымени; 5 – лактоза; 6 – калий)*

В молоке с высоким ССК повышается протеолитическая активность (рис. 7.3), в результате чего во время хранения в маститном молоке расщепляется больше казеина [617]. Протеолитическая активность в молоке с высоким ССК увеличивается за счет протеиназ, высвобождающихся при разрушении соматических клеток, и повышения активности плазмина [25, 617, 968].

В молоке с высоким ССК увеличивается липолитическая активность [556], что повышает отход жира в сыворотку. В связи с этим хранение и созревание молока с высоким содержанием соматических клеток в сыром виде должно быть ограничено.

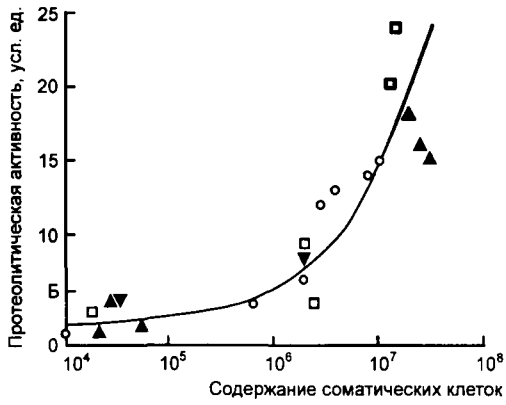


Рис. 7.3. *Взаимоотношения между протеолитической активностью и ССК в молоке. (Молоко получено от коров с маститами, вызванными инъекцией эндотоксинов из двух штаммов E. coli (○, □) и двух штаммов Str. agalactiae (▲, ▼))* [889]

Характер изменений белковой фракции молока при увеличении ССК должен привести к ухудшению свойств сычужного сгустка, снижению качества и выхода сыра, что и наблюдается на практике (табл. 7.6) [231, 572, 1285].

С увеличением ССК замедляется созревание и ухудшаются органолептические показатели сыров, в частности консистенция [889, 1248].

7.6. Влияние увеличения содержания соматических клеток на некоторые технологические показатели молока [18]

Показатели	Кол-во соматических клеток, тыс./мл			
	45	440	1000	20000
Время сычужного свертывания, мин	12,03	14,23	18,21	26,01
Жир в сыворотке, %	0,40	0,45	0,55	0,70
Влага в сгустке, %	53,78	53,91	56,61	60,07
Выход сыра, г сух. веществ/100 г	6,33	6,23	5,33	4,97

С повышением ССК возрастает частота обнаружения в молоке патогенных стафилококков и стрептококков (рис. 7.4) [872]. Следует иметь в виду, что эти микроорганизмы, по-видимому, всегда есть в молоке, но в нормальном молоке они содержатся в малых количествах и их не всегда можно выявить.

Изменения состава и свойств молока становятся заметными при ССК выше 200 тыс./мл. Это хорошо видно также на рис. 7.2 и 7.3. При ССК выше 1000 тыс./мл экспоненциальному изменению ССК соответствуют линейные изменения функции. С учетом этого в большинстве развитых стран граница ССК в молоке для сыроделия установлена на

уровне 400 тыс./мл. Для получения сборного молока с таким количеством соматических клеток необходимо разработать и внедрить эффективную программу профилактики маститов.



Рис. 7.4. *Доля четвертей вымени, в которых обнаружены возбудители маститов (Str. dysgalactiae, Str. uberis, Staph. aureus) в зависимости от ССК. Исследовано молоко из 10000 долей вымени*

Приведенные результаты получены на молоке от отдельных коров. Это следует иметь в виду при интерпретации результатов со сборным молоком, которое является смесью нормального и маститного молока. Вариабельность ССК в сборном молоке значительно меньше, чем в молоке от отдельных коров.

В заключение можно констатировать, что *ССК является важнейшим комплексным показателем сыропригодности молока*. Очень важно, что ССК можно легко и быстро определить в молоке.

7.2.13. Прочие соединения

В организм коровы могут попадать из окружающей среды, чаще всего с кормами, некоторые специфические вещества, которые в неизмененном виде переходят в молоко, из молока в сыр и в сыре вызывают пороки вкуса и запаха, в частности горький и прогорклый вкус. К ним относятся алкалоиды, эфирные масла и другие соединения растительного происхождения. Некоторые из них ядовиты.

7.2.14. Кислотность

Кислотность молока определяется двумя группами факторов:

- кислотностью его при выходе из вымени, которая зависит от породы и состояния здоровья коров, стадии лактации, полноценности кормления и обусловливается содержанием в молоке углекислого газа, цитратов, казеина, альбумина, фосфатов и других соединений;
- продуктами жизнедеятельности микрофлоры, природа которых зависит от количества и состава микрофлоры, температуры и продолжительности хранения молока.

В свежевыдоенном молоке от отдельных коров в зависимости от состояния их здоровья, кормления, стадии лактации и генетических

факторов кислотность варьирует от 10 до 24° Т. Улавливаемое анализами изменение кислотности под действием микроорганизмов начинается при увеличении их числа более 10^6 мл$^{-1}$.

Очень важна буферность молока, которая определяется содержанием в молоке казеина и фосфора, в меньшей степени цитратов [689]. При низкой буферности микрофлора лактококковых заквасок прекращает размножение и кислотообразование при невысокой титруемой кислотности, поскольку лимитирует рост лактококков в молоке, главным образом, не титруемая кислотность, а pH, зависящий от титруемой кислотности и буферности молока. В этом случае может возникнуть ложное представление о наличии в молоке ингибиторов роста микроорганизмов или загрязнении закваски бактериофагом.

В каждом стаде могут быть коровы, дающие молоко повышенной и пониженной кислотности, количество которых в зависимости от породы составляет 3–10% [689]. Умеренно низкая кислотность молока – следствие низкого содержания Р, сильно выраженная (щелочное молоко) – низкого содержания казеина. Исследование 222 образцов молока из 13 стад в период с апреля по октябрь показало, что кислотность его изменялась в интервале от 9,5 до 24,25 °Т [688]. Молоко с кислотностью более 21° Т содержало на 30% больше Р, чем с кислотностью ниже 14° Т. Молоко с pH 6,85 свертывалось в течение 39 мин, молоко с нормальной кислотностью – через 24–29 мин; молоко с очень высокой кислотностью свертывалось за 36,8 мин, т. е. немного медленнее, чем молоко с нормальной кислотностью. Авторы связывают это с изменением отношения Ca/P, которое уменьшалось в молоке с пониженной и повышенной кислотностью.

В других опытах установлено, что в молоке с низкой кислотностью (средняя 13,5° Т), было ниже, чем в молоке с нормальной кислотностью (17° Т), содержание казеина – на 5,2%, кальция – на 8,7%, золы – на 7,4%, а содержание хлора больше на 3,9%; молоко с повышенной кислотностью (22° Т) содержало больше казеина на 5,1%, кальция – на 5,4%, золы – на 6,9%, а хлора меньше на 2,4% [1491]. Молоко с пониженной кислотностью давало слабые кислотный и сычужный сгустки, качество сгустка повышалось при внесении в молоко $CaCl_2$.

Сычужновялое молоко имело более низкую кислотность по сравнению с молоком, обладающим нормальной сычужной свертываемостью, в нем было ниже содержание Са на 3,4–10,5%, общего казеина – на 9–11% и $\varkappa$-казеина [491]. При добавлении к нему 0,1 г/л хлористого кальция, доведении pH до 6,55 динамика его свертывания приблизилась к нормальной, но консистенция выработанного из него сыра была неудовлетворительной. Очевидно, в нем имеют место глубокие изменения в структуре мицелл казеина.

Оптимальная кислотность молока для производства твердых сыров лежит в пределах 18–19° Т (pH примерно 6,6) [1696]. Более низкая кислотность свидетельствует о незрелости молока или ненормальном его составе, обусловленном главным образом недостаточным кормлением

или заболеваниями коров. Незрелое молоко можно исправить созреванием или смешиванием со зрелым молоком, молоко с ненормальным химическим составом чаще всего невозможно исправить, и оно непригодно для выработки сыра. Молоко с повышенной кислотностью дает сыр с излишне кислым вкусом, крошливой, колющейся консистенцией.

Активная кислотность молока – наиболее важный фактор, влияющий на время сычужного свертывания (рис. 7.5) и степень перехода сычужного энзима в сырную массу: чем ниже pH, тем быстрее свертывается молоко и больше фермента остается в сыре. Снижение pH молока повышает плотность сгустка [213].

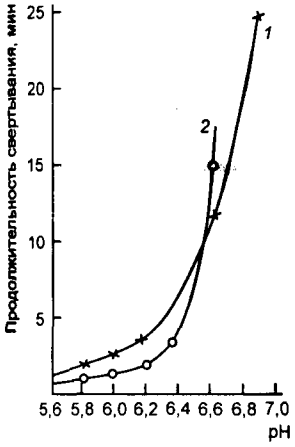


Рис. 7.5. *Влияние pH на продолжительность сычужного свертывания молока: 1 – сычужным ферментом; 2 – пепсином*

7.2.15. Окислительно-восстановительный потенциал (Eh)

Eh характеризует степень окисленности среды или способность системы отдавать и присоединять электроны. Нормальная жизнедеятельность любого микроорганизма происходит только при определенной величине Eh. Окислительно-восстановительный потенциал молока при прочих равных условиях в большой степени зависит от количества растворенного в нем кислорода, а количество растворенного кислорода – от вида и интенсивности механического воздействия на молоко. Eh стерилизованного молока в атмосфере азота, т. е. Eh собственных окислительно-восстановительных систем молока, равен примерно +100 мВ (Higginbottom & Taylor, 1960). Eh пастеризованного молока в аэробных условиях, т. е. в присутствии растворенного в нем кислорода, лежит в интервале от 220 до 290 мВ (Galesloot & Kooy, 1960). Широкий интервал Eh молока обусловлен колебаниями в содержании кислорода.

Высокий Eh молока препятствует размножению в нем маслянокислых бактерий, которые могут начать активный рост, если исходный Eh среды не выше +150 мВ. Это, по-видимому, главная причина отсутствия

пищевых отравлений через молоко, которые вызывают споровые анаэробы (*Cl. botulinum*, *Cl. perfringens*). Высокий Eh молока неблагоприятен для развития и молочнокислой микрофлоры заквасок. Молочнокислые бактерии также являются анаэробными бактериями, но, в отличие от маслянокислых бактерий, они резистентны к кислороду. Вместе с тем лактобактерии начинают активно размножаться только после того, как свяжут значительную часть растворенного в молоке кислорода и понизят его Eh до определенного уровня. Чем больше кислорода растворено в молоке, тем больше времени нужно молочнокислым бактериям для подготовки молока, тем позднее начнет повышаться кислотность молока во время выработки сыра. Кроме этого, обогащение молока кислородом активизирует окисление липидов, а некоторые свободные жирные кислоты ингибируют рост микрофлоры заквасок.

7.3. Микрофлора сырого молока

7.3.1. Пути влияния микрофлоры на производство и качество сыров

В нашей стране сыры, за исключением Швейцарского, вырабатывают из пастеризованного молока. Это снижает, но не ликвидирует влияние микрофлоры сырого молока на процессы выработки, созревания и качество сыра, что обусловлено несколькими причинами. Пастеризация уничтожает не всю микрофлору. Допустимую в сыроделии тепловую обработку выдерживают термостойкие микроорганизмы (термофильные лактобациллы и *Str. thermophilus*, энтерококки, пропионовокислые бактерии и др.), споры бактерий, бактериофаги микрофлоры заквасок. В зависимости от количества в исходном молоке терморезистентные бактерии и бактериофаги могут представить серьезную и трудно устранимую опасность для качества сыра. В первую очередь это касается маслянокислых бактерий, способных вызвать порчу крупных сыров при наличии в сыром молоке даже менее одной споры/мл (гл. 6).

Принято считать, что патогенные микроорганизмы погибают при пастеризации. Однако у большинства из них небольшое количество клеток (доли процента) полностью сохраняют жизнеспособность после пастеризации молока, а примерно в десять раз большее количество микробных клеток получают во время пастеризации сублетальные повреждения и теряют способность к активному размножению только на время, необходимое для репарации (залечивания) полученных повреждений (в зависимости от условий, в которые эти клетки попадают после пастеризации, на репарацию требуется 12–24 ч). Количество выдерживающих пастеризацию клеток патогенных бактерий зависит как от свойств микроорганизмов, так и от количества этих бактерий в исходном молоке. При нормальном ходе выработки выдерживающие пастеризацию клетки патогенных микроорганизмов опасности для сыра не представляют. Однако при низкой активности микрофлоры закваски

они после репарации повреждений начинают активно размножаться и создают угрозу безопасности сыра. Чем сильнее загрязнено сырое молоко патогенной микрофлорой, тем выше риск выработать сыр с неудовлетворительными показателями безопасности.

Общее количество аэробных бактерий в сыром молоке в результате пастеризации по допустимому в сыроделии режиму снижается примерно на порядок [378]. По увеличению устойчивости к пастеризации микроорганизмы сырого молока располагаются в следующем порядке: мезофильные лактобациллы < термофильные лактобациллы < термофильный стрептококк < пропионовокислые бактерии < коринеформы < энтерококки < микрококки < споровые бактерии.

Микрофлора может изменить состав и свойства сырого молока до пастеризации. Парное молоко непригодно для активного размножения микрофлоры закваски. В нем содержится недостаточное количество низкомолекулярных продуктов расщепления белков, необходимых для размножения молочнокислых бактерий (разд. 7.2.2). Лактококки сами расщепляют казеин до нужных для их жизнедеятельности соединений, но их протеолитическая активность становится заметной только после 4 ч инкубации. А секретируемые протеиназы лактококков обнаруживаются в молоке только после окончания лог-фазы их развития [1002]. Активность протеиназ молока слишком мала для того, чтобы в приемлемые для производства сроки обеспечить микрофлору заквасок требуемым количеством пептидов и свободных аминокислот.

В парном молоке все природные антибактериальные системы молока находятся в активном состоянии, а выше показано, что они не полностью инактивируются при пастеризации и могут в значительной степени ингибировать размножение микрофлоры закваски. Окислительно-восстановительный потенциал и содержание кислорода в свежевыдоенном молоке слишком велики для размножения молочнокислых бактерий закваски, что также удлиняет фазу задержки их развития (лаг-фазу).

В свежем молоке может недоставать ионизированного кальция для осуществления второй фазы сычужного свертывания. Концентрация ионов кальция возрастает при увеличении кислотности в результате размножения в молоке кислотообразующих микроорганизмов.

Определенное размножение микроорганизмов в молоке после выхода из вымени – необходимое условие повышения сыропригодности, так как при этом недостатки парного молока как сырья для выработки сыров ликвидируются. Для достижения этого молоко после получения выдерживают при определенной температуре и в течение определенного времени. Эта технологическая операция называется «созреванием молока». Движущей силой созревания молока является микрофлора.

Созревание молока проводят в строго контролируемых условиях, причем объектом мониторинга при созревании являются как интенсивность развития, так и качественный состав микрофлоры. Размножение в молоке любых микроорганизмов выше уровня, нужного для его подго-

товки как субстрата для молокосвертывающих энзимов и среды для развития необходимой микрофлоры, вредно для сыроделия. Показателем достаточности развития микрофлоры может служить титруемая кислотность, которая после созревания молока для выработки мелких сыров должна равняться 17,5–19° Т. Молоко, поступающее на сыродельные заводы с кислотностью выше 17,5° Т, не нуждается в созревании, так как этот процесс уже прошел на пути молока от коровы до завода.

Лучше всего, если во время созревания в молоке доминируют молочнокислые бактерии, поскольку их размножение другого вреда сыру, чем повышенная кислотность, не приносит. Более того, установлено, что мезофильные молочнокислые бактерии образуют соединения, стимулирующие рост лактококков [1646]. Правда, в сыром молоке, как уже отмечалось, могут быть штаммы *Lc. lactis*, образующие антибиотик низин, ингибирующий развитие микрофлоры закваски. Показано, что при выдержке сырого молока при комнатной температуре до снижения pH до 6,2–6,3 действительно образуются термостойкие и термолабильные ингибиторы роста микроорганизмов, в числе которых может быть и низин [262, 831]. Титруемая кислотность молока при таком значении pH выше 24° Т, что делает молоко непригодным для производства сыра по кислотности – постоянно контролируемому в производственных условиях показателю. В связи с этим, опасаться образования низина в сыром молоке не следует.

Слишком интенсивное размножение в молоке молочнокислых бактерий, ферментирующих цитраты, может привести к полной утилизации цитратов до получения сформованного сыра и стать причиной отсутствия правильного рисунка в мелких сырах. Однако это также может произойти только при повышении кислотности молока выше допускаемого в сыроделии уровня. В то же время размножение в сыром молоке молочнокислых бактерий до допустимого уровня, определяемого кислотностью молока, оказывает заметное ингибирующее действие на размножение технически вредной и патогенной микрофлоры (психротрофов, стафилококков и др.), образование стафилококковых токсинов [814, 1463].

Опасно размножение в сыром молоке любой микрофлоры, обладающей высокой протеолитической и/или липолитической активностью. Для активного размножения в молоке микрофлоры закваски нужно очень небольшое количество низкомолекулярных продуктов протеолиза, а излишний протеолиз снижает выход сыра. В сырах из молока, в котором размножались протеолитические бактерии, в частности *Ent. faecalis subs. liquefaciens*, часто появляется горечь.

Липолиз в сыром молоке увеличивает потери жира с сывороткой. Некоторые продукты липолиза ингибируют рост микрофлоры заквасок и пропионовокислых бактерий во время выработки и созревания сыра [111]. Кроме этого, продукты частичного липолиза становятся более доступными для технически вредной микрофлоры, что может привести к появлению прогорклого вкуса в сырах, вырабатываемых из молока, в котором размножались липолитические микроорганизмы.

Микрофлора в сыром молоке может образовать биологически активные вещества, не разрушаемые пастеризацией, которые в сыре могут проявить свою активность и ухудшить органолептические показатели или показатели безопасности продукта. Это прежде всего относится к психротрофным бактериям, большинство которых образует протеолитические и липолитические энзимы, выдерживающие пастеризацию [608, 1463]. Размножение в сыром молоке психротрофов до уровня выше 10^6 КОЕ/мл приводит к появлению в сырах горького, прогорклого вкуса и других пороков, прогрессирующих в процессе созревания, обусловленных действием протеаз и липаз психротрофов.

Энтеротоксигенные штаммы стафилококков могут образовывать в молоке термостабильные токсины, содержание которых в сыре, выработанном из этого молока, увеличивается за счет механической концентрации токсинов в сгустке.

Сырое молоко может стать опасным источником загрязнения молочных заводов технически вредной и патогенной микрофлорой, поэтому помещения, в которых хранят и обрабатывают сырое молоко, нужно тщательно изолировать от помещений, в которых вырабатывают и расфасовывают готовую продукцию. Однако полностью их изолировать не представляется возможным, и поэтому существует опасность послепастеризационного загрязнения молока и сыра микрофлорой сырого молока. Она будет тем выше, чем сильнее загрязнено сырое молоко вредной микрофлорой. В частности, отмечена корреляция между содержанием стафилококков в сыром молоке, поступающем на сыродельные заводы, и в сыре.

Таким образом, существуют четыре пути, по которым микрофлора сырого молока оказывает влияние на сыр: через микроорганизмы, выдерживающие пастеризацию; через изменения состава и свойств молока до пастеризации; путем образования биологически активных веществ, не инактивируемых пастеризацией и действующих во время выработки и созревания сыра; загрязнение окружающей среды на сыродельных заводах.

7.3.2. Источники загрязнения молока микроорганизмами

Микрофлора сырого молока формируется в результате обсеменения молока микроорганизмами в вымени коровы и из различных объектов внешней среды во время и после дойки, а также размножения и гибели микроорганизмов в сыром молоке во время хранения и транспортировки.

Вымя

Молоко в вымени здорового животного содержит в среднем около 1000, максимум 10000 клеток в 1 мл [1256, 1261]. Кроме этого, в сосковых каналах всегда содержатся микроорганизмы, количество которых в зависимости от качества ухода за животными в первых струйках молока варьирует с максимумом в несколько десятков тысяч КОЕ/мл. В основном они представлены микрококками, но также встречаются стафилококки, коринебактерии, энтеробактерии, псевдомонады. Доля микро-

флоры чистого вымени в общей микрофлоре сырого молока от здоровых коров невелика (обычно не более 10^4 КОЕ/мл) [1261].

При заболевании коров туберкулезом, бруцеллезом, инфекционными маститами соответствующие возбудители обнаруживаются в молоке в вымени. Молоко от коров, больных туберкулезом, бруцеллезом и рядом других болезней, передаваемых человеку, не разрешается перерабатывать на пищевые продукты, а коровы с этими заболеваниями выбраковываются. Возбудители этих болезней, однако, могут попадать в молоко при несвоевременном выявлении и отбраковке больных животных. Сырое молоко нельзя употреблять в пищу при отсутствии уверенности в том, что оно получено от здоровых животных. Случаев передачи этих болезней через пастеризованные молочные продукты не отмечается. Следует также отметить, что возбудители бруцеллеза и туберкулеза – аэробные микроорганизмы, а в сырах создаются условия, неблагоприятные для их развития.

Серьезную опасность для молочной промышленности представляют субклинические маститы, так как запрещено использовать для производства пищевых продуктов только молоко от коров, больных клиническими формами мастита. В сборном молоке всегда имеются примеси молока от коров с субклиническими маститами, количество которых зависит от эффективности работы ветеринарных служб.

Около 85% образцов молока из четвертей вымени, пораженных стафилококковыми маститами, содержат от 10^4 до 10^5, стрептококковыми – от 10^2 до 10^5 КОЕ/мл соответствующих возбудителей [472]. Высокое содержание клеток возбудителей (до $2{,}4 \cdot 10^9$ КОЕ/мл) бывает в молоке в начальной стадии острых маститов [1172]. При высоком уровне заболевания маститами коров в стаде микрофлора вымени может составлять в сборном молоке до 10^6 КОЕ/мл, т. е. количественный вклад ее в бактериальное обсеменение сырого молока может быть весьма значительным. Не выявлено корреляции между содержанием в молоке вызывающих маститы микроорганизмов и общим количеством бактерий.

Основными возбудителями маститов являются стафилококки и стрептококки (*Str. agalactiae*, *Str. dysgalactiae*, *Str. uberis*). Эти микроорганизмы являются этиологическими агентами до 90% инфекционных субклинических маститов, причем число стрептококковых маститов обычно превышает число стафилококковых. В ФРГ в 1986–1987 гг. 78,1% субклинических маститов были вызван стрептококками, 21,9% – стафилококками [764]; в Словакии стрептококковые маститы составили в 1967–1985 гг. 84% всех маститов [413]. Обычно доля стафилококковых маститов повышается при интенсивном применении антибиотиков для лечения болезней вымени, поскольку стафилококки быстрее адаптируются к антибиотикам.

Из стафилококков маститы вызывает *Staph. aureus*, реже – *Staph. epidermidis*, которые практически всегда присутствуют в сыром молоке. Так, в Англии *Staph. aureus* обнаружен в молоке 93,2% стад [472]. Око-

ло 10% штаммов *Staph. aureus*, выделенных из маститного молока, образуют энтеротоксины, в т. ч. некоторые из них образуют токсин А, чаще всего служащий причиной стафилококковых отравлений сырами [1458]. Большинство энтеротоксигенных штаммов, выделенных из маститного молока, образуют токсины С и В, которые в сырах редко обнаруживаются [967]. Больные маститами коровы и маститное молоко являются основным источником патогенных стафилококков на молочных фермах, а векторами переноса вызывающих маститы микроорганизмов являются доильное оборудование, кожные покровы животных, особенно вымени, руки доярок и другие объекты внешней среды. Мерой профилактики маститов является изоляция больных коров и выдаивание их с помощью другой, чем используемая для дойки здоровых коров, установки, тщательная мойка и дезинфекция доильных машин.

Из стрептококков наиболее часто мастит вызывает *Str. agalactiae* – облигатный паразит молочной железы [738]. Раньше его так и называли «маститный стрептококк». Он живет на поверхности сосковых каналов, не проникая в глубину тканей. Во внешней среде этот вид быстро погибает (максимальная продолжительность выживания три недели). Способен вызвать заболевания новорожденных (септисемия, менингиты, фарингиты, эндокардиты, артриты), но случаев передачи болезней, вызываемых этим видом, через молочные продукты не отмечено. Штаммы *Str. agalactiae*, вызывающие заболевания людей, отличаются по ряду биохимических свойств от штаммов, вызывающих маститы у коров [472, 738]. Нужно сказать, что был вызван мастит у коровы инъекцией в вымя суспензии клеток этого штамма человеческого происхождения, но заболевание быстро прошло [472].

Str. dysagalactiae, в отличие от *Str. agalactiae,* обитает не только в молочной железе, но также в миндалинах, матке, вагине. Умеренно патогенен, маститы вызывает значительно реже, чем *Str. agalactiae. Str. uberis* – этиологический фактор менее 1% инфекционных маститов. В сырах эти виды не обнаруживаются.

Маститы могут вызывать энтеротоксигенные штаммы *E. coli* [472]. Они вряд ли могут причинить вред здоровью человека, поскольку имеются отличия между штаммами, вызывающими маститы коров и заболевания людей, в частности в устройстве пилей, с помощью которых данные штаммы прикрепляются к слизистым поверхностям кишечника. В молоке энтеротоксигенные штаммы *E. coli* токсинов не образуют. Известны случаи заболеваний людей, употребляющих в пищу сыр без созревания, связанные с размножением в них энтеропатогенных штаммов кишечной палочки (нет данных об источниках их попадания в сыры – скорее это были штаммы человеческого происхождения).

Кроме указанных микроорганизмов, маститы могут вызвать энтеробактерии, листерии, псевдомонады, в частности *P. aeruginosa*, коринебактерии, микоплазма, *B. cereus*, микрококки, нокардия, серратия, кам-

пилобактер, *Cl. perfringens*, дрожжи, плесневые грибы [738]. Главным условием их участия в инфекции являются повреждения тканей вымени, появление которых зависит от конструкции и условий эксплуатации доильных установок.

Не только интерьер, но и экстерьер вымени – также важный источник бактериального загрязнения молока. При неудовлетворительной подготовке вымени перед дойкой с кожных покровов его может попадать в молоко до 100 тыс. КОЕ/мл микроорганизмов (табл. 7.7). Обработка вымени включает мойку, желательно проточной водой, погружение сосков в дезинфицирующий раствор и обязательную обсушку, для которой применяют бумажные полотенца одноразового использования. Для обсушки вымени также можно использовать хлопчатобумажные полотенца, обрабатываемые дезинфицирующими растворами. Подмывание вымени водой без последующей обсушки увеличивает бактериальную обсемененность молока.

***7.7. Обсеменение молока микроорганизмами с кожных покровов вымени (по Richard, 1975)* [1593]**

Микроорганизмы, ед. измерения	Содержание бактерий в 1 мл молока		
	Санитарная обработка вымени:		
	хорошая	недостаточная	отсутствие
Общее количество, тыс. КОЕ	1,4–12,0	25–210	11–140
Психротрофы, КОЕ	140–590	590–2300	–
БГКП, КОЕ	1–10	5–10	1–250

При надлежащей обработке вымени количество бактерий, попадающих с его кожных покровов в молоко, можно снизить до 5 тыс. КОЕ/мл. На кожных покровах размножаются стафилококки, микрококки; кроме этого, они могут содержать микрофлору, присутствующую в фекалиях, подстилке.

Следует подчеркнуть, что микрофлора вымени (интерьера и экстерьера) составляет важную часть микрофлоры сборного сырого молока только в случае его невысокой общей бактериальной обсемененности.

Персонал

Важным источником загрязнения молока микроорганизмами могут стать доярки. Главные требования, предъявляемые к персоналу, состоят в соблюдении правил производственной и личной гигиены. Ополаскивание невымытых рук 200 мл стерильного молока, например, обсеменило молоко 1300 КОЕ/мл [738]. По сравнению с бактериальной обсемененностью молока через примеси маститного это немного. Однако важен состав этой микрофлоры, так как персонал может быть источником загрязнения молока патогенными стафилококками, циркулирующими среди людей и образующими энтеротоксин А, а также возбудителями дизентерии, которые не

живут в организме животных и вызывают заболевания только у людей. В смывах с рук доярок обнаруживается синегнойная палочка.

Особенно опасны как источники загрязнения молока патогенной микрофлорой лица с кишечными расстройствами или недавно перенесшие подобные заболевания, больные ангинами, пиодермитами. Повреждения кожи на руках должны быть перед началом работы заклеены влагонепроницаемым пластырем. Персонал должен быть материально заинтересован в получении качественного молока и хорошо знать, что для этого делать.

Оборудование

При некачественной мойке и дезинфекции доильное оборудование, молокопроводы, инвентарь становятся основным источником обсеменения молока микроорганизмами [738]. На поверхностях плохо очищенного, влажного молочного оборудования количество бактерий через 12 ч может достичь миллионов клеток/см^2, в результате степень загрязнения молока бактериями через оборудование может составить 10^5–10^6 КОЕ/мл. Наиболее сильно загрязнены микрофлорой вакуум- и молокопроводы доильного ведра [1261]. При неадекватной мойке и дезинфекции доильных аппаратов на их поверхности может образоваться биопленка, содержащая 10^3–10^{11} КОЕ/г [1261]. В состав микрофлоры этой пленки входят 6–20% лактококков, 20–50% микрококков, 10–16% коринебактерий, 0,8–30% колиформ, 11–27% других грамотрицательных бактерий и 0,5–3,6% аэробных споровых бактерий.

Чаще всего доминирующей микрофлорой плохо обрабатываемого доильного оборудования, молокопроводов и инвентаря являются молочнокислые бактерии, размножающиеся в остатках молока. Этому способствует недостаточное охлаждение молока на ферме, стимулирующее размножение прежде всего молочнокислых бактерий, и, как следствие, массивное загрязнение ими окружающей среды на ферме.

Значительную часть микрофлоры плохо вымытого и продезинфицированного оборудования, молокопроводов и инвентаря составляют психротрофные бактерии (от 9,6 до 98,9%) [801]. Психротрофные бактерии в основном не сбраживают лактозу и как источники энергии используют белки и липиды молока, адгезирующиеся на плохо вымытых поверхностях. При хранении молока при низких температурах психротрофы доминируют в окружающей среде на фермах. В состав микрофлоры поверхностей оборудования и молокопроводов входят также БГКП и энтерококки; состав этой микрофлоры варьирует в зависимости от типа моющих и дезинфицирующих средств, температуры моюще-дезинфицирующих растворов. В смывах с оборудования и инвентаря с невысоким общим содержанием микроорганизмов могут доминировать микрококки, коринебактерии, в меньшей степени стрептококки и лактококки.

При уходе за оборудованием особое внимание следует обращать на резиновые детали, которые быстро изнашиваются, поскольку появляю-

щиеся при этом микро- и макротрещины могут стать убежищем для микроорганизмов. Загрязнение молока бактериями через резиновые детали может в десятки и сотни раз превышать загрязнение через металлические поверхности [808, 1261]. Высокие температуры моющих растворов, использование в составе дезинфицирующих средств сильных окислителей снижают сроки службы резиновых деталей. ММФ рекомендует менять резиновые детали раз в 3 мес, а резиновые шланги для подачи молока из цистерн – каждые 6 мес [967]. Оборудование из металла нужно предохранять от коррозии, которая прогрессирует при использовании в качестве дезинфицирующих агентов соляной кислоты и хлорсодержащих растворов с низким pH.

Отношение объема молока к площади поверхности емкостей, в которых оно хранится и транспортируется, достаточно велико, поэтому количество микроорганизмов, попадающих в молоко из хорошо вымытых емкостей, не превышает 1000 КОЕ/мл [738]. Однако при неадекватной мойке и дезинфекции, конструктивных недостатках (наличии труднодоступных для мойки и дезинфекции мест) оно может стать существенным источником загрязнения сырого молока микроорганизмами.

Преобладающей микрофлорой емкостей для хранения молока при температурах ниже 10° С являются психротрофные микроорганизмы, так как в молоке при низких температурах они защищены от конкуренции со стороны молочнокислых бактерий. Психротрофные бактерии составляют до 75% общего количества микроорганизмов в смывах с танков для хранения охлажденного молока. Для ограничения их распространения на фермах необходимо до минимума сокращать время хранения молока. Для уменьшения загрязнения последующих партий молока психротрофами, размножившимися во время хранения молока предыдущей партии, емкости нужно полностью освобождать от хранимого молока, тщательно мыть и дезинфицировать после каждого опорожнения [1302].

Высокая обсемененность охлажденного молока термофильной микрофлорой свидетельствует о низком уровне общей гигиены получения молока на ферме, поскольку термофильные бактерии не размножаются при температуре ниже 18° С.

Мойку оборудования и молокопроводов лучше проводить водой с температурой 45° С. Перед мойкой поверхности нужно скрести щетками несколько минут, для удаления всех отложений. Дезинфекцию проводят водой с температурой не ниже 85° С в течение не менее 30 с.

Вода и корма

Согласно санитарным правилам молочные фермы должны быть обеспечены водой, отвечающей требованиям к питьевой воде [1302]. Микробиологические требования к питьевой воде: общее количество бактерий – не более 100 мл$^{-1}$, содержание БГКП в 1 л (коли-индекс) – не более 3, коли-титр – 333 мл. Для сравнения приведем требования к воде в Ирландии: общее количество – не выше 500 мл$^{-1}$, БГКП – не более 50

в 100 мл [808]. При отсутствии воды с требуемыми микробиологическими показателями необходимо предусмотреть ее обеззараживание тепловой или химической обработкой.

В питьевой воде также нормируется содержание Al, Be, Mo, As, Pb, Se, Sr, F, Fe, Mn, Cu, Zn, нитратов, сульфатов, полифосфатов, хлора.

В количественном отношении вода не является основным источником обсеменения молока микроорганизмами, но она может стать источником загрязнения фермы вредной микрофлорой. Именно вода является первичным источником психротрофной микрофлоры. Конечно, в дальнейшем эта микрофлора размножается в остатках молока на поверхности оборудования, молокопроводов, а оттуда попадает в молоко, но первичным источником этих бактерий все-таки является вода. Естественные водоемы вблизи молочных ферм часто бывают загрязнены, особенно весной и осенью, навозными стоками, стоками с силосохранилищ. Такая вода может быть местом обитания самой разнообразной микрофлоры, в том числе и патогенной. Описан случай массового заболевания сальмонеллезом через сыр Чеддер, причиной которого было использование воды из реки, в которой выше по течению от места забора воды был труп животного. Обеззараживание воды из естественных источников должно быть обязательным.

Не рекомендуется для мойки и дезинфекции молочного оборудования использовать жесткую воду, особенно в сочетании со щелочными моющими средствами, так как это приводит к интенсификации отложения молочного камня, который защищает бактерии от дезинфицирующих веществ. Для смягчения воды можно использовать полифосфаты.

Роль кормов как источников загрязнения молока вредной микрофлорой подробно проанализирована в разд. 7.4.3.

Воздух

Обычно в воздухе молочных ферм содержится менее 50 клеток микроорганизмов в одном литре, и он не может заметно влиять на бактериальное загрязнение молока [738]. Однако воздух может служить вектором переноса микроорганизмов, представляющих особую опасность для сыроделия, а также бактериофагов микрофлоры заквасок. К особо опасным для производства твердых сыров бактериям относятся маслянокислые бактерии. Они попадают в молоко преимущественно через навоз и кожные покровы вымени при плохом уходе за животными. При раздаче силоса непосредственно перед дойкой или во время дойки воздух может быть сильно обсеменен маслянокислыми бактериями, а также листериями, бактериофагами молочнокислых бактерий. Вообще, следует придерживаться правила: минимум за 20 мин до начала дойки на скотном дворе нельзя проводить никакие операции, которые могут увеличить загрязнение воздуха (уборку навоза, смену подстилки, раздачу любых кормов). Раздача, например, сена может привести к обсеменению воздуха и молока спорами *B. cereus*, представляющих

серьезную угрозу стойкости некоторых молочных консервов и цельномолочных продуктов.

7.3.3. Размножение бактерий в сыром молоке

Размножение микроорганизмов в молоке во время хранения и транспортировки – вторая сторона формирования микрофлоры сырого молока. В результате размножения увеличивается содержание микроорганизмов в молоке и изменяется соотношение между группами бактерий, поскольку различные бактерии размножаются с неодинаковой скоростью. Для сохранения сыропригодности молока накопление микрофлоры не должно превышать допустимый уровень. Проблема сохранения бактериального качества молока при переходе к рынку обостряется. Обусловлено это увеличением количества мелких ферм, ежедневный вывоз молока с которых экономически невыгоден. Выход из этого положения – накопление молока на ферме, а следовательно, увеличение продолжительности его хранения.

Содержание микроорганизмов в молоке к моменту доставки на завод зависит от его обсемененности в организме коровы и от попадания микроорганизмов из внешней среды после выхода из вымени, температуры и продолжительности хранения на ферме, продолжительности и условий транспортировки. Закономерности размножения бактерий в молоке показаны на рис. 7.6. Представленные закономерности получены на молоке с исходной обсемененностью 6000 КОЕ/мл. После 24 ч хранения при 15,3° С содержание бактерий в молоке возросло до 10^6 $мл^{-1}$, а при 10° С – до $4 \cdot 10^4$ $мл^{-1}$; через 48 ч хранения при 15,3° С молоко по содержанию микроорганизмов стало непригодным для выработки твердых сыров, при 10° С это произошло примерно через 70 ч. Следовательно, даже при минимально возможном начальном заражении молока бактериями его нужно возможно быстрее после дойки охладить до температуры не выше 10° С, если планируется хранить до начала переработки более суток. При 10° С максимально допустимая продолжительность хранения молока с низкой исходной бактериальной обсемененностью равна 2,5 сут.

Молоко с бактериальной обсемененностью 6000 клеток/мл очень трудно получить, поэтому в мировой практике при необходимости хранения молока до переработки в течение 1,5 и более суток молоко охлаждают до температуры 4–5° С и ниже. Из рис. 7.6 видно, что при 4,4° С содержание бактерий в течение первых 48 ч хранения молока практически не изменилось. Начиная с 48 ч, содержание бактерий в молоке при 4,4° С начало возрастать, и к концу 4-х сут хранения оно увеличилось примерно в 2 раза.

Бактерицидная фаза молока длится до тех пор, пока не будут израсходованы антибактериальные вещества, и прежде всего тиоцианаты. Продолжительность бактерицидной фазы обратно пропорциональна степени первоначального бактериального загрязнения и температуре хра-

нения молока (табл. 7.8). Из данных табл. 7.8 видно, что при 4–5° С в молоке с низкой начальной обсемененностью она длилась не менее 2 сут, в молоке с высокой обсемененностью – менее суток. В неохлажденном молоке она заканчивается через 2–3 ч. При инфекционных маститах антибактериальные системы начинают расходоваться во время нахождения молока в вымени. Кроме этого, в маститном молоке резко возрастает содержание каталазы, что может нивелировать действие лактопероксидазной системы. В связи с этим бактерицидная фаза сборного молока может быть очень короткой или вообще отсутствовать.

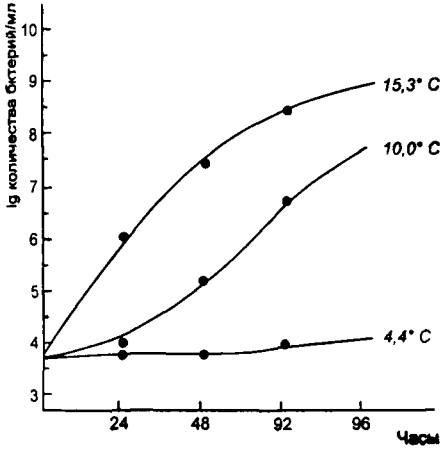


Рис. 7.6. *Рост бактерий в молоке в зависимости от температуры* [1054]

7.8. Размножение бактерий в молоке в зависимости от температуры и исходного содержания **[1256]**

№ опыта	Температура, °С	Количество бактерий, тыс./мл				
		0 ч	24 ч	48 ч	72 ч	96 ч
1	4–5	4,3	4,1	4,6	8,4	19,7
	10	4,3	14	128	5700	39000
2	4–5	137	282	539	749	852
	10	137	170	13600	25700	41200

Размножение бактерий в молоке с различным первоначальным бактериальным обсеменением показано в табл. 7.9. Образец А представлял асептически полученное молоко. В течение 22 ч хранения при 5 и 10° С в нем сохранилась бактерицидная фаза, хотя, судя по началу снижения стойкости в хранении при 10° С, в нем могли начать размножаться психротрофы, обладающие высокой протеолитической активностью. По общему содержанию бактерий это молоко сохранило сыропригодность даже при 21° С.

7.9. Влияние температуры хранения в течение 22 ч молока с различной начальной бактериальной обсемененностью на общее содержание бактерий и стойкость его в хранении [738]

Температура, °С	Образец А		Образец Б		Образец В	
	Общее количество, тыс./мл	Стойкость, ч *	Общее количество, тыс./мл	Стойкость, ч	Общее количество, тыс./мл	Стойкость, ч
5	1,90	46	41	38	270	24
10	1,72	44	48	34	740	20
15	15,10	40	110	26	17000	8
18	500,00	26	2420	18	58000	4
21	700,00	22	16600	6	200000	свернулось

* За критерий стойкости принимали время выдержки молока при 18° С в ч, после которой молоко свертывалось при кипячении

Образец Б представлял молоко, полученное при высоком уровне гигиены. По-видимому, в нем бактерицидная фаза при 10° С закончилась незадолго до окончания срока хранения. По общему содержанию бактерий согласно российскому законодательству его можно было использовать для производства сыра после 22 ч хранения при 18, но не при 21° С. Однако, если учесть, что при низких температурах в молоке преимущественно размножаются психротрофы, а эти бактерии угрожают качеству и выходу сыра и при более низких количествах, это молоко также было непригодно для выработки сыра после 22 ч хранения при 18° С.

Образец В представлял молоко с высокой первоначальной бактериальной обсемененностью. В этом молоке бактерии размножались даже при 5° С, а при 21° С оно через 22 ч свернулось.

Этот опыт указывает на необходимость охлаждения молока, даже полученного в хороших гигиенических условиях и при сравнительно непродолжительном хранении. В то же время охлаждение молока – необходимый, но недостаточный фактор обеспечения его сыропригодности. Необходимым условием является и соблюдение гигиенических требований получения молока. Охлаждение сохраняет качество молока, полученного в хороших гигиенических условиях, но не исправляет его недостатки, возникающие в результате их нарушения.

В табл. 7.10 показано изменение общего числа бактерий и содержания психротрофов в молоке во время хранения при различных температурах. В молоке со средней степенью исходного обсеменения (~$1{,}6 \cdot 10^5$ КОЕ/мл) общее количество бактерий при 4–5° С почти не изменилось на протяжении 48 ч хранения. Содержание психротрофов за этот период возросло в 5,2 раза, но осталось в рамках численности, не представляющей опасности для сыра.

7.10. Влияние степени первоначальной бактериальной обсемененности, температуры и продолжительности хранения на микрофлору молока [1464]

Хранение		Содержание бактерий, lg/мл		Средняя удельная скорость роста, 100 $ч^{-1}$	
Температура, °С	Время, ч	общее кол-во	психротрофы	общее кол-во	психротрофы
Молоко со средней начальной бактериальной обсемененностью					
4–5	0	5,21	4,37	–	–
	24	5,23	4,66	0,2	2,7
	48	5,25	5,08	0,2	3,4
7–8	24	5,68	5,08	4,5	6,8
	48	6,30	6,59	5,3	10,6
10–12	24	6,23	6,11	9,8	16,7
	48	7,34	7,42	10,2	14,6
Молоко с высокой начальной бактериальной обсемененностью					
4–5	0	6,95	6,02	–	–
	24	7,05	6,13	0,96	1,05
	48	7,13	6,38	0,86	1,75
7–8	24	7,18	6,27	2,20	2,44
	48	7,41	6,85	2,25	4,00
10–12	24	7,28	6,48	3,69	4,41
	48	7,53	6,43	2,80	1,99
Стерилизованное молоко, инокулированное *Ps. fluorescens*					
4–5	0	–	6,20	–	–
	24	–	6,55	–	3,35
	48	–	6,78	–	2,80
7–8	24	–	7,01	–	7,76
	48	–	7,26	–	5,08
10–12	24	–	7,12	–	8,82
	48	–	7,80	–	7,67

При 7–8° С молоко по содержанию психротрофов перестало соответствовать требованиям сыроделия в середине вторых суток хранения. Следовательно, при необходимости хранения молока при этой температуре более 2 сут, необходимо снижать уровень первоначального обсеменения молока микроорганизмами, т. е. повышать уровень гигиены получения молока. При 10–12° С молоко со средним уровнем первоначальной бактериальной обсемененности можно хранить не более суток.

Во время хранения при 4–5° С скорость размножения психротрофов в 13,5–17 раз превышала скорость увеличения общего содержания бактерий; при 7–8° С – в 1,5–2,0 раза; при 10–12° С – в 1,4–1,7 раза. Это зако-

номерно, поскольку психротрофами называют все микроорганизмы, способные размножаться при температурах ниже 7° С. К концу хранения психротрофы по количеству сравнялись или превысили общее число бактерий. Последнее можно объяснить более полным выявлением психротрофов, при количественном учете которых посевы выдерживаются в течение не 3, а 10 сут. Таким образом, при длительном холодильном хранении молока доминирующей в нем микрофлорой становятся не молочнокислые, а психротрофные бактерии, причиняющие сыроделию намного больше вреда. С широким применением низких температур хранения завершился этап доминирования в сыром молоке молочнокислых бактерий; на смену им пришли психротрофные бактерии. Со временем можно ожидать, что и молочнокислые бактерии адаптируются к низким температурам и отвоюют утраченную экологическую нишу.

Во втором опыте использовали сырое молоко, в котором в начале хранения общее количество бактерий равнялось 10^7 КОЕ/мл, количество психротрофов – 10^6 КОЕ/мл. Этот опыт не имеет непосредственного прикладного значения, поскольку такое молоко по общему количеству бактерий уже было несыропригодным в начале хранения, но он представляет несомненный научный интерес. Развитие в этом молоке микрофлоры отличалось от ее развития в молоке со средним уровнем обсемененности, прежде всего, значительно более низкой скоростью размножения психротрофов: она была ниже при 4–8° С в 2–3 раза, а при 10–12° С – в 7 раз. Скорость же увеличения общего количества бактерий в этом молоке была почти такой же, как скорость размножения психротрофов, в результате чего общее количество бактерий в молоке с высоким первоначальным обсеменением было выше содержания психротрофов в течение всего времени хранения. Объяснить это можно ингибирующим действием на рост психротрофов остальной микрофлоры молока. Об этом свидетельствует тот факт, что количество психротрофов в конце хранения молока при 10–12° С, т. е. при наиболее способствующей росту общего количества бактерий температуре из числа испытанных, было примерно в три раза ниже, чем в молоке, хранимом при 7–8° С, и в 1,2–3,6 раза ниже скорости развития *Ps. fluorescens* (наиболее распространенного представителя психротрофной микрофлоры сырого молока) в чистой культуре в стерилизованном молоке. При 10–12° С в период с 24 до 48 ч количество психротрофов в этом молоке не увеличилось, а даже несколько снизилось. Следовательно, ингибирующее действие микрофлоры молока на психротрофы носит не только бактериостатический, но и бактерицидный характер.

Ингибиторное действие микрофлоры сырого молока на психротрофы, хотя бы частично, можно объяснить образованием ею кислот: pH молока во втором опыте за время хранения при 7–8° С снизился до 5,8 и при 10–12° С – до 5,3. Это может свидетельствовать об активном росте в молоке молочнокислых бактерий. Активная кислотность молока со средней бактериальной обсемененностью при 4–8 и 7–8° С не увели-

чилась, а при 10–12° С pH за 48 ч хранения снизилась только на 0,1 ед., что характерно для молока при размножении в нем психротрофов.

Только повышением кислотности молока нельзя объяснить ингибирование развития психротрофов во втором опыте, которое наблюдали и при 4–5° С, т. е. при температуре ниже минимальной для размножения молочнокислых бактерий. Это можно объяснить тем, что молочнокислые бактерии могли образовывать ингибирующие вещества до того, как молоко охладили до 4–5° С. Известно также, что молочнокислые бактерии могут ингибировать рост психротрофов во время лаг-фазы, когда они не размножаются и не образуют кислоты. Целый ряд исследований свидетельствует о наличии среди молочнокислых бактерий видов и штаммов, обладающих специфическим антагонизмом по отношению к психротрофам. Селекция таких антагонистов и их использование одновременно для созревания молока и ингибирования роста психротрофов могут быть весьма полезными в получении зрелого молока, удовлетворяющего требованиям сыроделия.

Охлаждение молока до нужной температуры, выбираемой исходя из планируемой продолжительности хранения молока с учетом исходной бактериальной обсемененности, нужно проводить возможно быстрее – в течение не более 2 ч после дойки, пока в нем сохраняется бактерицидная фаза. О важности этого свидетельствуют результаты наблюдений за развитием коагулазоположительных стафилококков в сыром молоке в зависимости от температуры (табл. 7.11). В 1-ом варианте *молоко охлаждали сразу после дойки* до 10° С и доставляли на завод в пределах одних суток. В этом молоке стафилококки не размножались на протяжении 21 ч хранения и дольше.

7.11. Влияние температуры и продолжительности хранения сырого молока на развитие коагулазоположительных стафилококков [1080]

Обработка молока после дойки	Количество стафилококков (тыс./мл) после хранения в течение (ч)		
	1	5	21
Охлаждено до 10° С за 1 ч после дойки	2,4	2,7	2,6
Охлаждено до 23° С, после чего хранилось при окружающей температуре	2,4	6,5	3800
Не подвергалось принудительному охлаждению	2,4	400	22000

Вторую часть этого же молока после дойки охлаждали водой до 23° С и хранили при температуре окружающей среды. Такой вариант обработки молока обычно применяют при содержании коров на летних пастбищах. Уже через 5 ч количество стафилококков в таком молоке увеличилось в 2,7 раза, а через 21 ч – в 1580 раз. При такой обработке и доставке молока на завод раз в сутки оно может представить опасность для здоровья людей, так как стафилококковые энтеротоксины могут быть образованы в молоке при наличии 500 тыс. клеток/мл энтеротоксигенных штаммов.

Третью часть этого молока вообще не охлаждали. В этом молоке количество коагулазоположительных стафилококков через 5 ч увеличилось в 166 раз и составило 400 тыс./мл. Попытки некоторых производителей молока отказаться от его охлаждения обосновываются возможностями поставки молока в парном виде или целесообразностью его охлаждения не на фермах, а на низовых молочных предприятиях. Однако для обеспечения высокого качества неохлажденное молоко должно доставляться на заводы или молокоприемные пункты не позднее чем через 2–3 ч после дойки, что возможно только при четкой организации доставки. Нарушение же сроков доставки, что всегда может быть на практике, представляет угрозу для здоровья потребителей молока. Учитывая широкое распространение субклинических маститов, охлаждение молока сразу после получения должно быть обязательным условием его переработки на пищевые цели.

Остается открытым вопрос об организации закупок молока у мелких производителей. В некоторых странах, например, в Финляндии, мелкие производители свозят глубоко охлажденное молоко во флягах к пунктам забора, расположенным вдоль шоссе, оставляют его в этих пунктах без какого-либо надзора, а с пунктов молоко забирается строго по графику заводским транспортом. Система удобна, но она вряд ли применима в России. Она может успешно функционировать только при высоком уровне гигиены производства молока. В развитых странах заводы не закупают молоко у производителей при отсутствии его охлаждения на фермах. Если на ферме нет охлаждения, оно должно доставляться в течение 2 ч до места, где может быть охлаждено.

Однако длительное хранение молока при 4–7° С приводит к переходу мицеллярного казеина в растворимую форму и протеолизу части казеина под действием протеиназ молока и психротрофов [380]. Молоко, хранимое при этой температуре, по сравнению с молоком, сохраняемым при 10–20° С, медленнее свертывается сычужным ферментом, образует более слабый сгусток, при его обработке в сырной ванне увеличиваются потери жира с сывороткой и казеина с сырной пылью. Этот эффект, по крайней мере частично, снимается пастеризацией или выдержкой молока при 60–65° С.

7.3.4. Изменение микрофлоры молока во время транспортировки

Во время транспортировки качество молока может снизиться из-за плохой мойки и дезинфекции емкостей для молока и высокой температуры транспортировки. Загрязнение молока микроорганизмами с поверхности емкостей для транспортировки при прочих равных условиях пропорционально отношению площади поверхности к объему транспортируемого молока. Из этого следует, что загрязнение молока при транспортировке во флягах будет выше, чем в молокоцистернах при прочих одинаковых условиях. Кроме этого, температура молока во флягах повышается во время транспортировки в летний период примерно в 10 раз быстрее, чем в

молокоцистернах. Изменение микрофлоры молока при транспортировке во флягах и цистернах показано в таблице 7.12. При сборе молока через молокоприемные пункты следует ожидать еще большего его загрязнения из-за перелива молока из одних емкостей в другие.

7.12. Увеличение содержания бактерий при транспортировке молока во флягах и молокоцистернах в июле и августе [738]

Бактерии	Прирост, % к первоначальному	
	фляги	молокоцистерны
Общее содержание	260	1,5
Термостойкие	51	6,0
БГКП	306	18,0
Психротрофы	367	20,0

Количество бактерий на поверхности оборудования в период после мойки и дезинфекции и перед повторным его использованием увеличивается. Так, количество бактерий на поверхности вымытых и просушенных фляг после суточного хранения во влажной комнате на молочных фермах или заводах возрастает в 33–50 раз, после 2-суточного – в 200–300 раз. Следовательно, бактериальную чистоту емкостей для транспортировки молока нужно проверять не после их мойки и дезинфекции, а перед повторным использованием.

Изменение содержания бактерий в молоке во время транспортировки молокоцистернами показано в табл. 7.13. Увеличение числа бактерий в молоке за время транспортировки в этом случае произошло в основном за счет психротрофов и БГКП.

7.13. Изменение микрофлоры сырого молока во время транспортировки [1084]

Бактерии		% образцов с количеством бактерий, тыс./мл				
		<1	1–10	>10–50	>50–100	>100
Общее кол-во	Ф*	0,0	32,2	44,4	11,7	11,7
	З	0,0	2,8	45,2	27,4	24,6
Психротрофы	Ф	91,7	6,4	1,9	0,0	0,0
	З	55,0	30,0	13,3	1,7	0,0
Термостойкие	Ф	83,8	11,5	3,9	0,8	0,0
	З	68,5	27,4	4,1	0,0	0,0
Количество КОЕ/мл						
		<1	1–10	>10–100	>100–1000	>1000
БГКП	Ф	18,7	47,2	26,0	8,1	0,0
	З	2,9	7,4	52,9	33,9	2,9

*Ф – при отгрузке с фермы; З – при доставке на завод

При транспортировке в одной емкости молока от разных поставщиков следует избегать смешивания молока с высокой бактериальной

обсемененностью с доброкачественным молоком, особенно при недостаточном охлаждении молока. В этом случае молоко с высокой обсемененностью будет служить своеобразной «закваской» для доброкачественного молока, и в конечном итоге все молоко может быть испорчено.

7.3.5. Состав основной микрофлоры сырого молока

В таблице 7.14 обобщены сведения о составе, источниках и роли наиболее важной для сыроделия микрофлоры сырого молока.

7.14. Состав, источники и роль наиболее важной для сыроделия микрофлоры сырого молока

Микроорганизмы	Источники	Роль в сыроделии
1	2	3
Лактококки	Оборудование, молокопроводы, инвентарь, силос	Наиболее желательные микроорганизмы для созревания М. Ингибируют рост вредной м/ф. Излишнее размножение в М повышает его кислотность выше допустимого в сыроделии уровня и способствует репродукции лактококкового бактериофага. Погибают при пастеризации. Высокое содержание – индикатор неудовлетворительной санитарной обработки оборудования и недостаточного охлаждения М при хранении
Энтерококки	Оборудование, молокопроводы, навоз, кожные покровы, подстилка	Показатель низкого уровня гигиены получения М. При созревании пастеризованного или термизованного М без закваски могут стать доминирующей микрофлорой. Выдерживают пастеризацию. *Ent. faecalis subsp. liquefaciens* в М и сыре вызывает горечь
Str. thermophilus	Оборудование, молокопроводы	Показатель плохой мойки и дезинфекции оборудования, молокопроводов, инвентаря. Выдерживает пастеризацию. Высокое содержание в М может быть причиной самокола, сетчатого рисунка в мелких сырах
БГКП	Оборудование, персонал, молокопроводы, инвентарь; кожные покровы коров; реже – заболевания коров маститами	Индикатор уровня гигиены получения М, в меньшей степени – Т и времени хранения. Для сыроделия рекомендуется М, содержащее меньше 10^3 мл$^{-1}$. Вызывают маститы. При пастеризации большинство клеток погибает. Ухудшает качество и показатели безопасности сыров. Энтеропатогенные штаммы вызывают токсикоинфекции. В М энтеротоксины не образуют

Продолжение таблицы 7.14

1	2	3
Психротрофы	Вода, оборудование, молокопроводы, кожные покровы, редко маститы	Причины высокого содержания: низкое качество воды, мойки и дезинфекции оборудования и молокопроводов, длительное хранение при 4–7° С. При размножении до 10^6 мл$^{-1}$ и более образуют большое количество термостойких протеаз и липаз, снижающих выход и вызывающих пороки сыра (горечь, прогорклость и др.), прогрессирующие при созревании. *Ps. aeruginosa*, *Campylobacter* способны вызвать пищевые заболевания
Маслянокислые бактерии	Силос (через навоз или воздух)	Наличие в М более одной споры/мл *Cl. tyrobutyricum* делает его непригодным для выработки крупных, больше 10 спор/мл – мелких сыров. Для кормления коров в зонах сыроделия можно использовать силос, содержащий не более 1000 спор/мл маслянокислых бактерий, силос скармливать только после дойки. Содержание спор маслянокислых бактерий в М повышается весной (апрель-май) и осенью (октябрь-ноябрь)
Стафилококки	Маститы коров, персонал	Штаммы, образующие энтеротоксины (особенно А), вызывают токсикозы через М, сыр и другие молочные продукты. Токсины не инактивируются пастеризацией. Сырое М загрязняет стафилококками среду на молочных заводах, из которой они попадают в М и сыр. До 1% клеток стафилококков только временно инактивируется пастеризацией. В зависимости от вида продукта для образования токсинов необходимо не менее 10^5 – $1{,}5 \cdot 10^5$ КОЕ/г. Минимальная доза токсина, вызывающая болезнь, равна 1–20 мкг
Сальмонеллы	Животные (через навоз, иногда из вымени), грызуны, птицы	Вызывают токсикоинфекции через М и сыры. Попадают из сырого М в сыр через окружающую среду на заводах. Пастеризацию не выдерживают
Листерии	Силос, навоз, подстилка, реже маститы	Листерии сырого М заражают среду на молочных заводах. *List. monocytogenes* через цельномолочные продукты и сыры без созревания вызывает заболевания, характеризуемые высокой смертностью. Психротрофы

Продолжение таблицы 7.14

1	2	3
Общее число мезофильных аэробных и факультативно анаэробных бактерий	Животные, окружающая среда, персонал, корма	Характеризует гигиену получения, продолжительность и Т хранения М. В М после хранения при 10° С и выше с повышенной К обычно преобладают лактобактерии, после хранения при более низкой Т и низкой К – психротрофы. Молоко высшего качества по законам Европейского Союза должно содержать меньше 10^5 КОЕ в мл. Влияние на качество сыра зависит не столько от количества, сколько от состава м/ф. Предпочтительнее для сыров М, содержащее меньше $5 \cdot 10^5$ КОЕ/мл, допускается использовать М II класса по редуктазной пробе, при соблюдении нормативов по маслянокислым и психротрофным бактериям. Сенсорно различимые изменения М возникают при наличии в нем больше 10^6 КОЕ/мл

Примечание: М – молоко; м/ф – микрофлора; Т – температура; К – кислотность.

7.4. Факторы, влияющие на сыропригодность молока

Состав и свойства молока зависят как от самого животного (породы, здоровья, индивидуальных особенностей лактирующих коров, стадии лактации), так и от внешних факторов, главными из которых являются кормление и содержание животных. При этом здоровье коров зависит от генетических особенностей животного, гигиенических условий на ферме, включая способы доения, эффективность работы ветеринарной службы.

7.4.1. Порода скота

Молоко коров разных пород различается по составу и некоторым свойствам, поэтому порода скота оказывает влияние на сыропригодность молока. В табл. 7.15 приведены данные, характеризующие генетический потенциал пород.

Средняя жирность молока коров 19 пород при полноценных рационах находится в интервале от 3,30 до 5,75%. Средняя жирность молока черно-пестрой породы, к которой принадлежит около 50% всех коров в России, находится на втором снизу месте. Содержание белка в молоке лежит в диапазоне от 3,3 (черно-пестрая и шортгорнская породы) до 3,56% (ярославская, красная горбатовская) [1084]. Содержание белка в молоке коров айрширской и джерсейской пород равнялось 3,76 и 3,88%.

Различия по содержанию жира в молоке шести наиболее распространенных на Западе пород достигают 1,75%, по содержанию белка – 0,6%

[617]. По содержанию белка в молоке зарубежные породы располагаются в следующем порядке: джерсейская – 3,88%, бурая швицкая – 3,66%, гернезийская – 3,6%, айрширская – 3,37%, голштино-фризская – 3,15% [689].

7.15. Состав и сычужная свертываемость молока коров различных пород [1199]

Порода коров	Массовая доля, %			Содержание, мг %		Время свертывания, мин	Плотность сгустка, кг/м^3
	жира	белка	в т. ч. казеина	Ca	P		
Черно-пестрая	3,39	3,30	2,66	117	109	30	1660
Тагильская	3,80	3,40	2,70	120	113	31	2650
Холмогорская	3,48	3,32	2,68	119	112	29	2700
Ярославская	3,77	3,56	2,89	123	110	25	2800
Истобенская	3,74	3,22	2,70	120	107	32	–
Красная степная	3,30	3,32	2,56	121	107	36	1260
Бурая латвийская	3,93	3,53	2,84	125	100	33	–
Красная эстонская	3,83	3,36	2,75	123	95	34	3120
Костромская	3,68	3,34	2,68	129	112	23	3340
Красная горбатовская	3,91	3,56	2,87	133	112	22	3380
Симментальская	3,80	3,48	2,73	124	108	23	2860
Швицкая	3,56	3,36	2,71	128	110	23	3020
Бестужевская	3,70	3,49	2,80	133	102	32	–
Сычевская	3,63	3,19	2,64	126	105	11	3500
Лебединская	3,50	3,28	2,58	133	113	17	3900
Алатауская	3,64	3,41	2,80	125	107	15	4400
Шортгорнская	3,80	3,30	2,66	126	111	18	5190
Айрширская	4,44	3,76	3,01	124	107		
Джерсейская	5,75	3,88	3,10	171	140		

Неодинакова в молоке массовая доля казеина. Наиболее богато казеином (2,87–2,89%) молоко коров ярославской и красной горбатовской пород, наименее (2,56%) – красной степной. В молоке коров черно-пестрой породы его содержится 2,66–2,75% [1084, 1199]. Массовая доля казеина в общем содержании белков молока равнялась для моденской породы 79%, фризской – 76,9%, симментальской 78,3%, черно-пестрой и ярославской – 81% [1216]. Наиболее богато белком и казеином молоко джерсейской породы коров: оно содержит на 20% больше белка и казеина, чем молоко коров черно-пестрой породы. В молоке черно-пестрой породы коров содержание казеина было ниже на 1,23–3,02%, чем в молоке голштинских коров [1766].

Порода скота влияет на состав казеинов молока. Среднее содержание фракций казеина в молоке по 17 породам составляет: α-фракция – 36,05% (с колебаниями от 32,3 до 46,1%), β- и $\varkappa$-фракции – 56,19% (с колебаниями от 46,3 до 60,3%), γ-фракция – 7,84% (с колебаниями от 3,8

до 13,2%) [1216]. В молоке коров черно-пестрой породы содержится меньше, чем в среднем, α-казеина (33,1%) и больше β- и γ-казеинов (58 и 8,9%). Повышенное содержание γ-казеина в общем белке по сравнению с молоком коров айрширской, симментальской и голштино-фризской пород наблюдается также у коров холмогорской породы [1595]. Варьирует относительное содержание $\varkappa$-казеина: в молоке джерсейской породы, например, оно выше, чем фризской породы [689].

Различия в составе генотипов казеинов молока между породами значительно выше, чем между отдельными линиями одной и той же породы. У джерсейской породы преобладает В-вариант $\varkappa$-казеина, который у фризской породы встречается гораздо реже, чем вариант А. Еще большие различия наблюдаются в генотипическом составе β-казеина [689]. У голштинской породы селекции ФРГ по сравнению с черно-пестрой породой вологодской селекции более высокая частота В β-казеина и более низкая В $\varkappa$-казеина и А β-лактоглобулина [1216].

Наличие генов, управляющих синтезом определенных генотипов казеинов, влияет и на другие показатели молока. Так, в молоке с В- и АС-вариантами β-казеина, а также в молоке с более высокой частотой В-варианта β-лактоглобулина доля казеинов в общем содержании белка выше, а содержание цитратов ниже, чем в молоке с другими генотипами этого казеина [689].

Размер частиц казеина по 17 породам в среднем равен 679±0,58 Å с колебаниями от 630±0,60 до 748±0,74 Å. [1216]. Самые мелкие частицы казеина в молоке черно-пестрой породы, в молоке коров бурой латвийской, костромской, красной горбатовской, симментальской, швицкой, сычевской, лебединской, алатауской и шортгорнской он выше среднего уровня.

Молоко коров различных пород содержит неодинаковые количества Са и Р. Молоко коров черно-пестрой породы было самым бедным по содержанию Са и занимало среднюю позицию по содержанию Р. Самым высоким содержание Са и Р было в молоке коров джерсейской породы (171 и 140 мг/100 мл соответственно). В пересчете на единицу белка различия между содержанием Са и Р в молоке коров разных пород уменьшаются, но сохраняются. Так, если принять количество Са и Р в пересчете на казеин в молоке коров черно-пестрой породы за единицу, то в молоке коров ярославской породы содержание Са составит 1,03; холмогорской и костромской пород – 1,08; симментальской – 1,10 и джерсейской – 1,34; по Р этот ряд имеет вид 0,92; 1,02 и 1,10; 0,96; 1,10. То же касается содержания Mg и цитратов, размеров мицелл [380].



Барабанщиков Николай Васильевич 1918–2000 гг.

Кислотность свежевыдоенного молока отдельных коров зависит от содержания в нем казеина и фосфора, а следовательно, и от породы. Так, количество свежевыдоенного молока с кислотностью выше 18° Т составляет для молока моденской породы 9,5%, бурой – 5,1%, реджийской 2,9% от общего количества [689]. Породы различаются и по количеству молока с кислотностью ниже 14° Т. Обычно молоко реджийской породы имеет более высокую кислотность, чем молоко фризской породы.

Различия между породами коров по химическому составу молока должны проявиться в продолжительности сычужного свертывания и реологических показателях сычужного сгустка, что и наблюдается в действительности [1216]. Сычужная свертываемость молока 17 пород отечественной селекции в опытах Барабанщикова колебалась от 11 (сычевская) до 36 (красная степная) мин, равняясь в среднем 23,5 мин; молоко коров черно-пестрой породы свертывалось в среднем за 30 мин [1199, 1216]. Неодинаковая сычужная свертываемость молока различных пород обусловливает и неодинаковое количество химозина, которое требуется для свертывания молока в оптимальный для сыроделия срок. Для свертывания молока коров ярославской и холмогорской пород требуется меньше энзима, чем для свертывания молока от коров черно-пестрой породы соответственно на 21 и 6–9% [1084].

Важнейшей характеристикой сгустка является его плотность. По плотности сычужного сгустка молока Барабанщиков делит породы на три группы, плотность сгустка у которых не выше 2,0, от 2,0 до 3,5 и выше 3,5 г/см^3 [1216]. По его мнению, для сыроделия наиболее пригодно молоко второй группы коров. Для промышленного молока чаще всего характерна низкая плотность сгустка, что, очевидно, связано с попаданием в сборное молоко маститного и снижением содержания белка и казеина из-за недостаточного кормления молочных коров. К сожалению, коровы черно-пестрой породы дают сгусток с самой низкой плотностью (1,66 г/см^3), что коррелирует с низким содержанием белков и особенно казеина, но не размером мицелл казеина в молоке этой породы. Первые два фактора имеют большее значение, чем размер мицелл казеина.

Во вторую группу входят тагильская, холмогорская, ярославская, красная эстонская, костромская, красная горбатовская, симментальская, швицкая и сычевская породы; в третью – лебединская, алатауская и шортгорнская породы. Самая низкая плотность сгустка у молока коров красной степной породы. Наблюдается взаимосвязь между плотностью сгустка, его эластичностью, продолжительностью свертывания, фаз коагуляции и гелеобразования, величиной pH.

Лучшие сгустки были получены из молока швицкой, сычевской, костромской, симментальской, ярославской и красной горбатовской пород. Из молока коров черно-пестрой и красной степной пород получали дряблые или вялые сгустки, с низкой синеретической активностью. Повышение дозы молокосвертывающего энзима не улучшило реологические по-

казатели сгустков молока этих пород. Они плохо отделяли сыворотку, в результате время обработки зерна увеличивалось: продолжительность обработки сгустков молока черно-пестрой и красной степной пород была на 20–60 мин больше, чем сгустков молока коров второй группы. При переработке молока черно-пестрой и красной степной пород отмечаются большие потери сухих веществ с сывороткой. Максимальная разница по содержанию сухого вещества, жира и белка в сыворотке при переработке на сыр молока 1, 2 и 3 групп составляет соответственно 0,87; 0,32 и 0,60% [1216], что обусловливает неодинаковую степень использования компонентов молока в сыре. Существенное повышение выхода сыра при переработке молока джерсейской и голштинской пород коров и их помесей с черно-пестрой породой по сравнению с молоком чистопородного черно-пестрого скота отмечают Барабанщиков [1216], Щербакова [1766].

Порода скота влияет даже на такие свойства молока, как бактерицидная активность, обусловливающая не только стойкость в хранении молока, но и резистентность самой коровы к заболеваниям вымени [188].

Особый интерес представляет отрицательная корреляция между величиной удоев и содержанием в молоке белка, поэтому ориентировка в селекции коров только на величину удоев неизбежно влечет к снижению содержания белка в молоке [689]. Качество сычужных сыров будет снижаться и в том случае, когда за счет повышения удоев общее количество белка и жира, получаемое за лактацию, возрастет, а относительное содержание белка в молоке уменьшится, что и наблюдается на практике. Так, молоко от коров джерсейской породы содержит на 20–25% больше белка и казеина, чем молоко коров голштино-фризской породы, и поэтому более пригодно для выработки твердых сычужных сыров, но суммарное количество белка, которое дают за лактацию коровы голштино-фризской породы, выше, чем у коровы джерсейской породы. Следовательно, отбор скота по содержанию белка в молоке без учета величины удоя приводит к снижению молочной продуктивности. В зонах интенсивного сыроделия селекция скота должна проводиться по несколько другим критериям, чем в остальных зонах, а интересы производителей молока должны быть учтены путем дифференциации цены за молоко.

О необходимости учета требований сыроделия в племенной работе по молочному скоту в зонах выработки твердых сыров свидетельствуют тенденции снижения содержания белка в молоке. В 1978–1980 гг. среднее содержание белка в молоке в СССР равнялось 3,13% с колебаниями по зонам и республикам от 2,98 до 3,26% [1205]. В 1985–1993 гг. массовая доля белка в молоке в Центральном районе к концу периода была ниже базисного значения (3,18%) на 0,06–0,17%. В Уральском регионе она равнялась 2,93%, в обследованных зонах Башкортостана – 2,7–2,95%, на Северном Кавказе – 3,27%. Среднегодовое содержание белка в молоке, поступившем на 27 сыродельных заводов СССР в 1987 г., равнялось 3,06%, в 1988 – 3,02% [1413].

Молоко черно-пестрой породы коров по степени сыропригодности, как показано в табл. 7.16, уступает молоку большинства других пород [1767]. Интересны попытки повысить сыропригодность молока черно-пестрой породы путем скрещивания с голштинской породой [566, 1595]. В молоке коров, содержащих 1/2 крови черно-пестрой и 1/2 крови голштинской пород по сравнению с молоком чистопородной черно-пестрой породы увеличилось содержание белка на 0,94–1,24%, доля казеина в общем белке – на 1,36%, содержание Са на – 12%, Р – на 1–3% при существенном увеличении удоя. Молоко голштинизированных животных имело меньшую на 20–24% продолжительность сычужного свертывания, обеспечивало более высокий выход и улучшение качества Голландского брускового сыра на 1,5–3,2 балла.

***7.16. Сыропригодность молока и качество сыра в зависимости от породы коров* [1340]**

Порода скота	Сгусток		Расход молока, кг/кг сыра	Качество сыра, баллы
	плотность, г/см^3	эластичность, г/см^3		
Костромская	3,3	0,6	11,5	94,1
Симментальская	2,9	0,4	11,4	93,3
Ярославская	2,8	0,3	12,0	92,7
Черно-пестрая	1,7	0,3	13,4	88,5

Молоко от помесей холмогорской породы с голштино-фризской более сыропригодно, чем молоко от чистопородных холмогорских коров [1595].

7.4.2. Стадия лактации и сезон

Состав и свойства молока меняются в течение лактации. Особенно резко они изменяются в самом начале и конце лактации. В эти периоды в молоке увеличивается содержание альбуминов и глобулинов крови и снижается содержание казеина, что делает молозиво и стародойное молоко непригодным для выработки сыра.

При полноценном кормлении на протяжении всей лактации содержание жира и белка в молоке будет минимальным в период максимальных удоев, которые обычно бывают во 2-м мес лактации [566]; в средней России в сборном молоке оно минимально в апреле-мае (Перфильев, 1998). Изменение состава молока, поступавшего в Москву в течение четырех лет, в зависимости от сезона показано в табл. 7.17. Оно согласуется с изменениями состава молока в зависимости от стадии лактации, поскольку массовые отелы коров при отсутствии их регулирования происходят в весенний период. Кроме этого, на сезонные изменения состава и свойств молока оказывают влияние рационы кормления [380]. Особенно резко состав молока меняется при переводе коров со стойлового на пастбищное содержание и наоборот.

Снижение удоев по ходу лактации при полноценных рационах сопровождается повышением содержания белков и липидов, содержание лактозы очень незначительно снижается к концу лактации. В Англии и Уэльсе разница между минимальным и максимальным содержанием жира и белка в молоке на протяжении лактации при полноценных рационах составила соответственно 16 и 14%, отношение содержания казеина к содержанию жира изменялось от 0,61 (1-й мес) до 0,74 (5–6-й мес лактации) [46]. Молоко, полученное во второй половине лактации при полноценных рационах, обеспечивает хороший выход и качество сыра [533]. По данным Перфильева (1998), максимальное содержание Са и Р в сборном молоке, поступающем на Угличский сырзавод, наблюдалось в период пастбищного содержания коров. Изменения соотношения между фракциями казеинового комплекса выражаются в заметном снижении плотности молочного сгустка. Как правило, она бывает более высокой в середине и третьей четверти лактации [593]. Плотность сгустка из сборного молока тесно коррелирует со средней стадией лактации коров стада [693].

7.17. Изменение состава товарного молока (%) по сезонам года (по Давидову)

Квартал	Сух. вещества	Жир	Белок	Казеин	Казеин/ жир	Казеин/ белок
I	11,5	3,6	3,2	2,5	0,69	0,78
II	11,4	3,5	2,9	2,2	0,63	0,76
III	12,0	3,7	3,2	2,4	0,65	0,75
IV	12,5	3,8	3,5	2,8	0,74	0,80
Среднее за 4 года	11,9	3,8	3,3	2,5	0,66	0,78

В последнем квартале изменяется структура казеинов: уменьшается содержание α- и β-казеинов, увеличивается количество $\varkappa$- и γ-казеина, протеозо-пептонов за счет повышения активности плазмина [251, 380]. Это должно уменьшить выход сыра и оказать влияние на созревание крупных сыров, в котором плазмин принимает активное участие.

От стадии лактации зависит продолжительность сычужного свертывания молока [693]. На протяжении лактации продолжительность свертывания сборного молока от 271 коровы варьировала от 30–48 до 8–22 мин, что авторы связывают с изменением как средней стадии лактации коров стада, так и характера кормления. Продолжительность сычужного свертывания молока коров на 6–9 мес лактации было на 20% ниже, чем средняя продолжительность за лактацию. По-видимому, это связано, прежде всего, с повышением содержания белка и казеина в молоке в этот период.

Количество соматических клеток в молоке на протяжении лактации несколько снижается, что может быть связано со снижением удоев, поскольку высокоудойные коровы чаще заболевают маститами.

В весенний период часто наблюдается низкая активность ароматообразующей микрофлоры заквасок во время выработки сыра, что некоторые авторы объясняют снижением содержания в молоке марганца [677]. Действительно, Mn оказывает сильное стимулирующее действие на рост и кислотообразование лейконостоков и *Lbc. plantarum*, несколько менее сильное – на *Lc. diacetylactis* [1286, 1577]. Средняя концентрация Mn в коровьем молоке равна около 30 мкг/кг с колебаниями от 5 до 65 мкг/кг; минимальное его содержание наблюдается в весенний, максимальное – в осенний периоды [1199, 1371]. Широкий диапазон колебаний содержания Mn в молоке в зависимости от региона и сезона, обусловленный геохимическими причинами и рационами кормления, свидетельствует о возможности снижения в молоке содержания Mn до уровня, при котором нормальное развитие лейконостоков становится невозможным. Добавлением в молоко небольших количеств Mn можно активизировать развитие газоообразующей микрофлоры заквасок [677]. Делать это нужно осторожно, так как слишком активное развитие газообразующей микрофлоры закваски может нанести вред вкусу и рисунку сыра и даже вызвать раннее вспучивание. Следует также отметить, что оптимальные концентрации Mn для размножения лейконостоков в полноценных для них по другим показателям питательных средах (не в молоке) намного выше (6–8 мг/100 мл), чем требуемое его содержание в молоке для выработки твердых сыров [566].

Добавление в молоко стойлового периода дрожжевого автолизата и сока травы резко стимулировало кислотообразующую активность лейконостоков, в то время как добавление этих веществ к молоку пастбищного периода не давало такого эффекта [1266].

Хорошо известно так называемое «весеннее несквашивание» молока, выражающееся в низкой кислотообразующей активности молочнокислых бактерий, которое объясняют биологической неполноценностью молока в этот период без разъяснения сущности неполноценности. По-видимому, объяснять это только ухудшением кормления коров весной нельзя, так как «весеннее несквашивание» молока, хотя и в слабовыраженной форме, наблюдается и при полноценном кормлении. Недостаточно обоснованы экспериментально точки зрения отдельных авторов о дефиците содержания в весеннем молоке витаминов или минеральных компонентов как причины низкой кислотообразующей активности микрофлоры заквасок. Не выявлено корреляции между содержанием в молоке аминокислот и снижением активности лактококков в весеннем молоке [628]. Штаммы молочнокислых стрептококков, сохраняющие активность в весеннем молоке, нуждались в меньших количествах рибофлавина, но в больших биотина, обладали повышенной протеолитической активностью и синтезировали никотиновую кислоту [1002].

Возможными причинами снижения активности микрофлоры закваски весной является низкая буферность молока в период массовых отелов из-за низкого содержания казеина и фосфора. Нельзя также исклю-

чить усиление весной антибактериальной активности молока, поскольку весна – время массовых отелов животных в природе, а следовательно, именно в этот период антибактериальная активность молока должна быть максимальной. Резкое увеличение содержания лизоцима в молоке после отела свидетельствует о том, что организм животного адекватно реагирует на потребности новорожденных. Интересны в этом отношении результаты опытов Климовского и Калининой по изучению развития 12 штаммов *Str. lactis* в весеннем и летнем сборном молоке, представленные в табл. 7.18. Авторы этих опытов делают весьма нечеткий вывод о большей пригодности летнего молока для *Str. lactis*. На наш взгляд, развитие культур шло одинаково в летнем и весеннем молоке, а гибель клеток шла очень быстро в весеннем и медленно в летнем молоке. Это говорит о наличии в весеннем молоке каких-то литических факторов. Имеются многочисленные свидетельства об увеличении численности бактериофагов лактококков в весеннем молоке, одной из причин которого может быть повышение чувствительности микроорганизмов к бактериофагу в этот период, например, в результате сублетального воздействия антибактериальных систем молока на клеточную стенку. Известно, что лизис бактериальных клеток бактериофагами может сопровождаться появлением в среде веществ, лизирующих бактериальные клетки других штаммов. Возможно и другое объяснение: весной происходят массовые отелы, удои достигают максимума, в результате чего переработка молока на сыр также достигает пика, а чем выше объемы вырабатываемого сыра, тем большие возможности для репликации бактериофагов на заводах.

***7.18. Накопление биомассы и образование кислоты Str. lactis в летнем и весеннем молоке* [1429]**

Возраст, ч	Количество клеток млн./мл		Кислотность, °Т	
	апрель	июнь	апрель	июнь
0	12	16	21	25
8	1160	1300	68	69
24	1750	1720	97	102
48	10	1430	100	112
168	–	–	99	114

Интерпретировать результаты опытов по влиянию стадии лактации на состав и свойства молока нужно крайне осторожно, так как на них может оказать влияние изменение рационов и климатических условий на протяжении лактации, а эти факторы могут оказать более сильное влияние на молоко, чем изменение физиологического состояния животных в ходе беременности, за исключением периодов в конце лактации и

после отела. Сравнение нужно проводить только на молоке от здоровых коров, так как частота заболеваний коров субклиническими маститами тоже меняется в зависимости от сезона.

Встречаются высказывания, что сыры из летнего молока быстрее созревают, однако экспериментальных доказательств этого недостаточно. В то же время есть данные, что при высокой температуре в летний период качество молока по сравнению с молоком в другие периоды года ухудшается: снижается прочность сгустка (30,32 г по сравнению с 40,74–50,15 г), энергия разрушения (0,27 по сравнению с 0,39–0,46 дин/см^2) и модуль эластичности (в 1,2–1,5 раза) (Ohashi et al.,1982).

На состав молока влияет возраст коровы. За каждую лактацию при прочих равных условиях в молоке снижаются: содержание СОМО – на 0,07, а жира – на 0,03%, однако этот фактор вряд ли имеет какое-либо значение для сборного молока [566]. С возрастом снижается устойчивость коров к маститным заболеваниям, хотя новые заболевания после шести лактаций встречаются редко (возможно в связи с выбраковкой коров, склонных к маститам, в предыдущие лактации).

7.4.3. Кормление

Полноценное кормление коров – одно из главных условий получения молока нормального состава. При неполной обеспеченности коровы протеинами и/или энергией снижается не только удой, но и изменяется соотношение между компонентами молока, в частности, снижается содержание жира и белка, в том числе казеина, увеличивается время сычужного свертывания, ухудшается синерезис, органолептические показатели и уменьшается выход сыра [251, 533, 692, 1219, 1592]. Снижение питательной ценности рациона на 15,3% снизило суточный удой на 2,3 кг и содержание жира – с 3,16 до 3,07% [903]. Содержание коров в сухостойный период (6 недель) и в первые 3–4 недели лактации на низкокалорийном рационе (1,79–3,49 кормовых единиц) привело к снижению содержания белка и жира в молоке до 3% и менее в первые недели лактации, затем при снижении удоев содержание белка повысилось, а содержание жира оставалось на низком уровне в течение 6–8 недель лактации [642].

Содержание белка в молоке увеличивается примерно на 0,6 г/кг при увеличении количества энергии в рационе на 1 кормовую единицу [189]. Условием такого повышения является сбалансированность рациона по другим компонентам. Влияние на состав молока недостатка протеина в рационе при полной обеспеченности энергией показано в табл. 7.19. Избыток протеина в корме по сравнению с содержанием энергии оказывает отрицательное влияние на здоровье коров и технологические свойства молока.

Добавление в полноценный по энергии рацион метионина (15 г/сут) и лизина (40 г/сут), защищенных от действия микрофлоры рубца, не влияло на удой и содержание жира, но увеличивало содержание белка в молоке с 3,15 до 3,25% [248]. Дефицит этих аминокислот в ра-

ционе – одна из причин снижения содержания белков в молоке. Параллельно с этим увеличивается количество Са и Р, что вполне закономерно, поскольку часть этих элементов является структурными компонентами казеиновой мицеллы. В молоке коров, рацион которых обогащали метионином и лизином, уменьшалось количество сывороточного альбумина и $\varkappa$-казеина, увеличилось содержание α- и β-казеинов, метионина и лизина.

7.19. Влияние дефицита протеина в рационе лактирующих коров на состав молока [566]

Показатели, ед. изм.	Рационы	
	полноценный	дефицитный (30%)
Средний дневной удой, кг	12,4	11,2
Жир, %	4,5	4,1
Белок, %	3,2	3,1
Фосфор общий, мг%	84,0	81,0
Фосфор органический, мг%	38,0	34,0

Недостаток энергии в рационе снижает содержание белка в молоке даже при полной обеспеченности протеином рациона [1420]. Это обусловлено недостатком энергии для синтеза белка в рубце, а часть расщепленного протеина корма при этом выделяется в молоко в виде мочевины. Недостаток энергии в рационах лактирующих коров в некоторых регионах Алтайского края (до 50% от нормы) вызвал снижение доли белка в молоке до 3% и повышение уровня мочевины, который превысил физиологическую норму в 2–6 раз [692].

Есть опытные данные, показывающие, что уровень мочевины в молоке влияет на качество сыра [692]. Однако прямое внесение в молоко нормального состава 1 г/л мочевины не выявило ее влияния на качество сыра Конте (сыр с высокой температурой II нагревания) [1518]. Возможно, в первом опыте высокое содержание мочевины в молоке было косвенным показателем ненормального состава молока, что и повлияло на качество сыра, а во втором опыте мочевину вносили в молоко нормального состава.

Переход от дефицитного по энергии и протеину рациона к полноценному сравнительно быстро приводит к восстановлению нормальной жирности молока, но не величины удоя, который длительное время может оставаться на более низком уровне по сравнению с нормальным уровнем для породы [903].

Химический состав молока можно модифицировать кормлением лактирующих коров. Так, жирность молока зависит от pH содержимого рубца; она снижается при высоком содержании концентратов или низком содержании клетчатки [291]. Ненасыщенные жирные кислоты корма (линолевая, линоленовая) переходят в неизмененном виде в молоко, по-

этому включение в рационы кормов, содержащих липиды, может изменить состав молочного жира, что скажется на качестве сыра [1425, 1553]. Включение в рационы дойных коров рапса, подсолнечника, овса увеличивает содержание мононенасыщенных жирных кислот в молочном жире, что повышает пластичность сыров [404]. В то же время повышение содержания в молочном жире полиненасыщенных жирных кислот в пастбищный период может ухудшить рисунок в крупных сырах из-за ингибирования роста пропионовокислых бактерий, и, по-видимому, является одной из причин мажущейся консистенции сыра [111].

В опытах по изучению влияния льняного жмыха на качество масла и сыра первой группе коров-аналогов давали 140 г жмыха на 1 кг корма, второй – 245 г/кг корма, в контрольной группе жмых был заменен эквивалентным по питательности количеством пшеничных отрубей. В табл. 7.20 приведены результаты этого опыта. Включение в рацион жмыха повысило общее содержание белка в молоке, но только за счет увеличения содержания сывороточных белков, что свидетельствует о неблагоприятном влиянии высоких доз этого корма на здоровье коров. Снижение доли казеина ухудшило технологические свойства молока.

***7.20. Влияние льняного жмыха в рационе коров на состав и технологические свойства молока, качество сыра* [1341]**

Группа коров	Содержание в молоке, %			Расход сычужного энзима, % к контролю	Время обработки сгустка, мин	Оценка сыров, баллы
	белка	казеина	сыв. белков			
I	3,4	2,6	0,8	124	135	89,0
II	3,5	2,6	0,9	144	161	82,0
Контроль	3,2	2,6	0,6	100	107	97,4

Существует корреляция между содержанием минералов (Ca, P, Na, Fe, Cu, Zn, Mn, Se) в почве, растениях и крови животных [1066]; содержание некоторых минеральных компонентов в молоке можно увеличить добавлением в рацион фосфата кальция, карбоната кальция, окисла цинка, сульфата меди и других минеральных веществ, что положительно сказывается на здоровье животных и сыропригодности молока [950]. С другой стороны, корма являются основным источником повышенного содержания тяжелых металлов в молоке. Высокое содержание токсичных элементов в молоке обусловлено техногенными причинами [1362]. В связи с этим на каждом предприятии следует периодически проводить исследования содержания вредных минеральных компонентов в молоке в различных точках сырьевой зоны с тем, чтобы отбирать для переработки на сыр молоко, гарантирующее выработку продукции, соответствующей медико-биологическим требованиям. Есть данные, свидетельствующие о нецелесообразности использования для выработки пищевых продуктов молока, полученного при даче коровам кормов, выращенных

в радиусе 13 км от алюминиевых заводов [1362]. Причинами являются высокое содержание в растениях в этих зонах фтора и бензопирена.

В связи с разнообразием пестицидов, применяемых в сельском хозяйстве, и необходимостью контроля их содержания в сырах в соответствии с «Инструкцией по порядку и периодичности контроля за содержанием микробиологических и химических загрязнителей в молоке и молочных продуктах на предприятиях молочной промышленности» (1995 г.) производители молока обязаны сообщать молочным заводам и органам госсанэпиднадзора о видах пестицидов, которые используют для заготовки кормов.

Перевод коров со стойлового на пастбищное содержание увеличивает прочность сычужного сгустка, что можно объяснить увеличением содержания в молоке казеина и Са [376, 693]. Замена травы эквивалентным по кормовой ценности количеством силоса, приготовленного из этой же травы, снизило содержание казеина в молоке на 1,2 г/кг и ухудшило его сычужную свертываемость.

Сыры из летнего молока обычно выше по качеству, чем сыры из зимнего молока. Активность микрофлоры заквасок для производства сыров в молоке повышается при частичной замене в зимних рационах комбикормов (до 50%) эквивалентным по кормовой ценности количеством травяной муки, в которой более полно, чем в сене и силосе, сохраняются биологически активные вещества, присутствующие в зеленой массе [1302].

На качество сыра влияет состав трав на пастбищах и сенокосных угодьях [1659, 692]. Попадание в корма лютика, чемерицы, плюща, полыни, тысячелистика, ромашки, сурепки, дикого лука, донника, пижмы, люпина, лопуха, полевой горчицы приводит к появлению в молоке и сыре горького вкуса, не прогрессирующего во время созревания, который нельзя устранить известными технологическими способами [1659]. Корма, полученные на кислых почвах, лесных пастбищах, так же как на почвах, избыточно удобренных азотистыми и калийными удобрениями, дают молоко с плохой сычужной свертываемостью, сыры из которого бывают низкого качества и с плохим выходом [1437]. Молоко от коров на горных пастбищах обычно обладает лучшей сычужной свертываемостью по сравнению с молоком, полученным на низинных пастбищах. Клеверные пастбища дают молоко с более высоким общим содержанием казеина, α- и β-казеинов и более плотным сгустком, чем райграссовые (табл. 7.21) [376, 1593].

Замена сена в рационе, содержащем, в % по кормовой ценности, сено зернобобовых (20), солому овсяную (13), кукурузный силос (28) и концентраты (35) равными по питательной ценности количествами соломы, силоса, свеклы уменьшило долю белка в молоке на 0,28%, жира на 0,22%, количество сыра высшего сорта – со 100 до 66,4% [1437]. Большинство специалистов по кормлению считают хорошее сено идеальным кормом для дойных коров в зонах сыроделия. Следует отметить, что сено по сравнению с силосом намного богаче Са.

7.21. Влияние пастбища на содержание казеина в молоке и плотность сычужного сгустка [213]

Показатели	Райграсс	Белый клевер
Казеин, %	2,11–2,49	2,17–2,77
Плотность сгустка, г	19,9–21,5	24,25–25,75

Резко отрицательные результаты в предыдущем опыте дала и замена в первом рационе свеклы и третьей части силоса кислым свекольным жомом в количестве 26% от питательной ценности рациона: кислотность молока понизилась, отношение содержания казеина к содержанию сывороточных белков уменьшилось с 4,8 до 3,7, увеличились продолжительность сычужного свертывания и расход сычужного энзима (на 10%), количество сыров высшего сорта уменьшилось на 25%. Такие изменения в составе молока обычно характерны для больных животных. Недостатками сыров, выработанных из молока коров, которым скармливали кислый свекольный жом, были слабо выраженные вкус и аромат.

Из молока коров, получающих рационы с высоким содержанием концентратов, по мнению Давидова, трудно выработать сыры высокого качества [1341]. Доля одного корма в рационах дойных коров, по его рекомендациям, не должна превышать 20% по питательности.

Горький и прогорклый вкус в молоке появляется при скармливании коровам больших количеств сырого картофеля, турнепса, льняного жмыха, испорченных жмыхов и комбикормов, гнилой свеклы, брюквы, заплесневелых сена и соломы [1425, 1659]. Большое количество в рационах свеклы, выращенной на переудобренной селитрой почве, увеличило содержание в молоке нитратов до 0,55%, снизило содержание белка и казеина на 18,2% [1513]. Однако неясно, является ли селитра прямой причиной снижения содержания белка и казеина в молоке.

Прогорклый вкус молока, по-видимому, непосредственно не передается сырам; обусловлен он частичным липолизом с образованием свободных жирных кислот. Продукты частичного липолиза более легко атакуются технически вредной микрофлорой в сыре, что может привести к появлению в нем пороков вкуса, запаха и консистенции. Кроме этого, некачественные корма вызывают расстройства желудочно-кишечного тракта, что может способствовать загрязнению молока фекалиями и патогенной микрофлорой. Плесневелые корма являются главным источником загрязнения молока микотоксинами.

Корма не только влияют на химический состав молока, но могут быть существенным источником загрязнения микрофлорой окружающей среды на молочных фермах и тем самым влиять на бактериальную обсемененность молока. Особенно важен в этом отношении силос.

Консервирующими факторами при силосовании являются анаэробные условия и кислоты, образуемые при сбраживании углеводов растительной массы микроорганизмами, главным образом молочнокислыми

бактериями, которые в свежескошенной траве составляют несколько процентов от общего количества микроорганизмов. В определенной степени силосование и сыроделие основаны на одних и тех же принципах, поскольку основными защитными барьерами против микробиологической порчи сыра также являются анаэробные условия и молочнокислое брожение. Как и в сыре, на первых этапах силосования в растительной массе размножается самая разнообразная микрофлора. Эта фаза заканчивается, когда pH растительной массы снизится до 4,2. Чем дольше будет продолжаться фаза развития смешанной микрофлоры, тем до более высокого уровня размножится вредная микрофлора, тем больше будут потери питательных веществ и тем опаснее будет силос для сыроделия. Последнее обусловлено тем, что в силосе, пока pH не достигнет 4,2, активно размножаются маслянокислые бактерии, споры которых выдерживают пастеризацию молока. Из силоса споры вместе с частицами корма или через навоз попадают в молоко, из молока – в сыр, а в сыре некоторые виды маслянокислых бактерий, в частности *Cl. tyrobutyricum*, при определенных условиях могут размножаться до конца созревания, вызывая пороки вкуса, рисунка, консистенции, цвета и внешнего вида (гл. 6). *Cl. tyrobutyricum* в небольших количествах встречается в почве, однако главным источником загрязнения молока этим видом является силос плохого качества. Правда, в связи с увеличением порчи сыров в результате маслянокислого брожения в Швейцарии в последние годы высказывается мнение, что источником загрязнения молока маслянокислыми бактериями может быть также сено, спрессованное в большие тюки, в центре которых создаются анаэробные условия [987]. Спорами маслянокислых бактерий может быть загрязнен любой ферментированный корм, например, жом, пивная барда. Есть работы, показывающие непригодность этих кормов для дойных коров в зонах сыроделия из-за отрицательного влияния на состав молока [1437].

Кроме *Cl. tyrobutyricum* в силосе могут размножаться другие виды споровых анаэробов, в частности возбудители ботулизма (известны случаи смертельных отравлений ими скота через силос). Чем интенсивнее размножаются в силосе маслянокислые бактерии, тем опаснее для сыроделия кормление коров силосом. Размножение в силосе маслянокислых бактерий сопровождается снижением его кормовой ценности: если при сбраживании углеводов молочнокислыми бактериями потери энергии составляют 4%, то при сбраживании маслянокислыми бактериями они повышаются до 24%. Размножение маслянокислых бактерий сопровождается повышением pH силоса, что может стимулировать рост протеолитических бактерий, наносящих еще больший ущерб кормовой ценности силоса. Силос с высоким содержанием масляной кислоты плохо поедается животными.

Хороший силос должен содержать не более 10^3 спор/г маслянокислых бактерий, не более 0,1% масляной кислоты, иметь pH 3,7–4,0 [1730]. В силосе с интенсивным развитием маслянокислых бактерий от-

ношение содержания масляной кислоты к суммарному содержанию масляной и молочной кислот обычно больше 0,50 [636].

Для предупреждения развития маслянокислых бактерий в силосе нужно обеспечить в нем содержание углеводов не ниже сахарного минимума (т. е. минимального количества, обеспечивающего уровень pH ниже 4,2) за счет правильного подбора компонентов силосуемой смеси; максимально сократить время закладки силоса; тщательно измельчать и утрамбовывать силосуемую массу; не допускать загрязнения закладываемого силоса землей и навозом; хорошо укрывать силос; не допускать силосование массы с высоким содержанием влаги. Эти меры направлены на возможно более быстрое создание в силосе анаэробных условий, подавляющих рост протеолитических бактерий, продукты метаболизма которых стимулируют размножение маслянокислых бактерий. Есть данные, что маслянокислые бактерии в силосе будут находиться в лаг-фазе до тех пор, пока не произойдет лизис части растительных клеток [636].

Для ускорения кислотообразования рекомендуется вносить в силосуемую массу закваску молочнокислых бактерий и тем самым создавать численное преобладание их с самого начала силосования. По мнению некоторых авторов, закваску необходимо всегда вносить в силосуемую массу, если содержание молочнокислых бактерий в ней меньше 10^5 КОЕ/г [636]. Хорошо зарекомендовала себя закваска для силосования кормов ВНИИМС-ИНБИ, которую можно приготовить на любом молочном заводе [1294, 1592]. Эта закваска в растительных субстратах обладает высокой кислотообразующей и специфической антагонистической активностью по отношению к маслянокислым бактериям. Готовят ее на молочной сыворотке, доза внесения – один литр на тонну силосуемой массы.

В силосе с заквасками, когда исходное содержание молочнокислых бактерий достигает 10^6 КОЕ/г, pH снижается значительно быстрее и до более низкого уровня, чем в силосе из этой же растительной массы при спонтанном силосовании [100]. Этот результат отмечается всеми исследователями. Также отмечается снижение содержания в таких силосах спор маслянокислых бактерий и масляной кислоты. Скармливание такого силоса повышает удои и улучшает качество молока и сыра. Последний вывод делается большинством, но не всеми экспериментаторами. В одном эксперименте установлено, что в силосе с заквасками *Lbc. plantarum* и *Ent. faecium* содержалось меньше сухих веществ, чем в контрольном силосе без закваски (44 и 46,7% соответственно) [1123]. Авторы опыта делают вывод об отсутствии влияния закваски на качество молока и сыра. Однако в этом опыте использовали растительную массу с очень высоким содержанием сухих веществ (скорее всего, силосовали подвяленную траву), что само по себе может быть достаточным средством для ингибирования развития нежелательной микрофлоры в силосе. И действительно, масляная кислота в этом эксперименте практически отсутствовала и в опытном, и в контрольных силосах. Кроме этого, при учете степени сохранения питательной ценности кор-

ма нужно учитывать не только относительное, но и абсолютное содержание сухих веществ.

Подавляющее большинство авторов сообщает о лучшем сохранении питательной ценности кормов в силосе с заквасками. Так, в опытах, поставленных в Белорусской с.-х. академии, в силосе с заквасками ВНИИМС-ИНБИ содержание протеина было на 3,42%, а привесы при его скармливании – на 8,2% выше по сравнению с силосом из этой же травы спонтанного силосования [1392]. В опытах итальянских ученых применение закваски позволило снизить потери корма при силосовании в три раза [927]. Для получения положительных результатов необходимо внести в силосуемую массу достаточное количество активных клеток *Lbc. plantarum* и лактококков (внесение сухих культур может не дать положительного результата из-за большой лаг-фазы развития в растительных субстратах). Скармливание силоса, закладываемого с заквасками, оказывает положительное действие на состояние вымени и сокращение заболевания коров [142].

Широкое распространение получили способы консервирования растительных кормов с внесением органических кислот (метод Виртанена), т. е. с полной или частичной заменой биологических продуцентов кислоты в растительной массе химическими. Для этой цели используют муравьиную, пропионовую, бензойную, сорбиновую, реже соляную и серную кислоты. Химические консерванты используют вместе с предварительным подвяливанием растительной массы. Так, в Финляндии трава на силос скашивается при содержании клетчатки 25–27% и протеина 16–17%, подвяливается в течение 6–8 ч до повышения содержания сухих веществ с 20 до 30–35%, мелко измельчается и силосуется с добавлением 5–6 литров на тонну смеси соляной и муравьиной кислот, тщательно уплотняется и укрывается [1730]. Финляндия, по-видимому, единственная страна, в которой вырабатывают крупные сыры мирового класса по качеству при скармливании коровам больших доз силоса. Аналогичную технику силосования применяют в Нидерландах, хотя крупные сыры там не вырабатывают.

При использовании химических консервантов не только подавляется развитие бактерий, но и лучше сохраняются водорастворимые углеводы, которые используют микроорганизмы для своей жизнедеятельности, что, безусловно, должно положительно отразиться на кормовой ценности силоса.

В опытах Cushnanan & Mayne сравнивали свежую траву (Т) и приготовленные из этой травы силосы с внесением в траву *Lbc. plantarum* ($2 \cdot 10^6$ КОЕ/г) (ТР) или кислот (ТК) [203]. Показатели кормов и молока при их включении в рацион в эквивалентных по питательной ценности количествах показаны в табл. 7.22. Силос с закваской позволил получить максимальный удой, но с минимальным содержанием жира и белка в молоке. Этот опыт свидетельствует о преимуществах силосования с применением кислот по сравнению с силосованием с закваской. Однако химический метод требует большого количества крайне дефицитных кислот,

точной их дозировки, которая должна основываться на данных о химическом составе силосуемого материала. Внесение излишнего количества кислоты может оказать отрицательное влияние на здоровье животных. Самые плохие результаты дает спонтанное силосование, особенно переувлажненного материала. В Швейцарии в зонах выработки крупных сыров вообще избегают кормить коров силосом.

7.22. Эффективность скармливании травы (Т) и приготовленного из нее силоса с заквасками (ТР) и органическими кислотами (ТК) **[203]**

Показатели, ед. изм.	Типы корма		
	Т	ТР	ТК
pH	5,14	3,81	4,08
Водорастворимые углеводы, г/кг	183	36	100
Содержание в кормах:			
аммиака, г/кг	13,8	36	46,2
молочной кислоты, г/кг	–	124,6	27,0
Суточный удой, кг	21,2	21,8	20,7
Содержание в молоке, г/кг:			
жира	40,7	32,6	36,1
белка	30,0	30,6	31,5

В зонах сыроделия при отсутствии возможностей для применения химических консервантов и заквасок для силосования целесообразно силос заменять сенажом.

7.4.4. Здоровье животных

Заболевания коров влияют на качество молока следующими путями:

- изменение химического состава за счет смешивания молока, синтезируемого в альвеолах, с изотоническим раствором, поступающим из крови из-за увеличения проницаемости стенок кровеносных сосудов и тканей вымени и содержащим факторы, защищающие животных от инфекции;
- изменение состава молока в результате действия энзимов, попадающих в молоко с соматическими клетками и из крови коров [380];
- попадание в молоко лекарств, применяемых для лечения коров;
- загрязнение молока патогенной микрофлорой непосредственно в организме коровы или через окружающую среду на ферме.

Наибольшую опасность для качества молока представляют маститы молочных коров из-за широкого их распространения и размножения патогенных микроорганизмов в молоке маститных коров уже в вымени. Маститы подразделяют на клинические и субклинические [737]. Клинический мастит проявляется видимыми изменениями молочной железы и молока, повышением температуры животных. Молоко от коров с клиническим мас-

титом не подлежит переработке на пищевые продукты. Субклинические маститы не имеют видимых признаков: они диагностируются по увеличению в молоке количества соматических клеток и характерным для мастита изменениям состава и микрофлоры молока. Молоко с повышенным содержанием соматических клеток принимается молочными заводами, хотя и с понижением сортности и оплаты. Субклинические маститы встречаются в 30–50 раз чаще, чем клинические [1261]. Ущерб от заболевания коров маститами, например, в Германии составляет около 1 млрд. марок в год.

Влияние маститов на состав молока показано в табл. 7.23. При заболевании маститами снижается содержание в молоке сухих веществ, жира, белка и лактозы, т. е. всех его основных компонентов [968].

Содержание в сборном молоке 4,40–4,69% лактозы при отсутствии фальсификации молока – один из наиболее точных показателей наличия в нем маститного молока [453, 884]. Как правило, в стаде, от которого получено это молоко, не менее 30% коров болеет маститами. Дальнейшее снижение содержания лактозы свидетельствует об увеличении количества маститных коров в стаде. В маститном молоке повышается содержание γ-казеина, протеозо-пептонной фракции и свободных жирных кислот с числом атомов углерода до 12. Это обусловлено повышенной концентрацией липолитических и протеолитических энзимов в маститном молоке. Зависимость протеолитической активности в молоке от содержания в нем соматических клеток показана на рис. 7.3.

Изменяется состав белковой фракции: общее содержание казеина снижается, а содержание сывороточных белков резко возрастает. Из казеинов снижается содержание α_{s1}- и β-казеинов, содержание $\varkappa$-казеина несколько повышается. Из сывороточных белков содержание молочных альбумина и глобулина понижается, а концентрация альбуминов и иммуноглобулинов крови резко возрастает. В маститном молоке увеличивается отношение растворимого к мицеллярному казеину, что должно уменьшить степень использования казеина и ухудшить технологические свойства сгустка [380]. Снижается термостойкость сывороточных белков. Увеличивается содержание лактоферрина.

В молоке от маститных коров увеличивается содержание энзимов, за исключением ксантиноксидазы [555, 889, 968]. Особенно сильно возрастает содержание каталазы и лизоцима. Важным, но не единственным источником энзимов в маститном молоке являются соматические клетки. Источником энзимов могут быть и микроорганизмы – возбудители мастита.

Повышение энзиматической активности, особенно липолитической и протеолитической, в молоке от маститных коров может быть причиной горького и прогорклого вкуса сыра [1437].

В маститном молоке содержание Ca, Mg и P снижается на 25–75%, примерно на 10% уменьшается количество K, содержание Na и Cl возрастает, несколько повышается концентрация Cu, I и Zn. Глубина изменения химического состава молока зависит от тяжести заболевания. Некоторые авторы считают, что увеличение значения (Cl : лактоза) ×100 более 3 свидетельствует о заболевании коровы субклиническим маститом [27].

7.23. Влияние маститов на состав молока [472, 555]

Показатели	Содержание в молоке из больных долей вымени
Сухие вещества, %	до 10,8
Жир, %	2,2 (1,5–3,5)
Белок, %	до 6,1
Лактоза, %	4,03–4,69
Свободные жирные к-ты	++ *
Состав СЖК:	
$C_2 - C_{12}$	+
$C_{16} - C_{18}$	–
Казеины:	
α_{s1}-казеин	– – –
β-казеин	– – –
$\varkappa$-казеин	++
Сывороточные белки:	+++
β-лактоглобулин	– – –
α-лактальбумин	– – –
альбумин крови	+++
иммуноглобулины	+++
протеозо-пептоны	+++
Лактоферрин	+++
Анионы и катионы:	
Na	++
K	–
Cl	+++
Ca	– – –
Mg	– – –
P (неорганический)	– – –
Энзимы:	
каталаза	++++
липаза	++
лизоцим	+++(+)
Витамин C, мг/100 г	следы – 1,5
Рибофлавин	–
Кислотность:	
ед. pH	6,7–6,84
°T	15,9–14,0

* «+» – 10-кратное увеличение; «++» – (11–100)-кратное увеличение; «+++» – (101–1000)-кратное увеличение; «++++» – 1000-кратное и более высокое увеличение; «–» – снижение на 10%; «– –» – снижение на 11–25%; «– – –» – снижение на 26–75%;

В молоке из воспаленных долей снижается содержание рибофлавина и витамина С, повышается концентрация холестерина [27]. Следует отметить, что молочнокислые бактерии нуждаются в витаминах группы В [1593].

Изменения химического состава молока, характерные для маститов, ухудшают его технологические свойства. Десятикратное повышение количества соматических клеток в молоке по отношению к их среднему содержанию в молоке от здоровых коров увеличило продолжительность сычужного свертывания на 18,3%, уменьшило плотность сгустка на 12,5%, увеличило потери жира в сыворотку и снизило выход сыра [902]. Снижение выхода сыра из молока, содержащего более 500 тыс. соматических клеток в 1 мл, равнялось 8,9%. Молоко с пониженной кислотностью плохо свертывается сычужным ферментом, а увеличение содержания хлоридов ухудшает синерезис, поскольку они блокируют катионные связи $\varkappa$-казеина и препятствуют агрегации мицелл казеина [380]. При выработке Чеддера из молока с 1,3 млн./мл соматических клеток продолжительность выработки увеличилась на 20 мин, а содержание влаги – с 36,1 до 37,7% [867]. Даже 10% маститного молока в сборном увеличивают время сычужного свертывания и ухудшают технологические свойства сгустка.

Молоко от больных субклиническими маститами коров, подвергаемых лечению, содержит остатки лекарственных средств, в частности антибиотики. В зависимости от вида антибиотики могут выделяться в молоко в течение 3–7 дней после последней инъекции [952]. Пенициллины после инъекции обнаруживались в молоке от некоторых коров в течение более 3 сут. Молоко с ингибиторами не подлежит переработке на пищевые продукты, и после инъекции антибиотиков его нельзя направлять на молочные предприятия раньше чем через 5 дней.

В молоке из долей вымени больных инфекционными клиническими маститами может содержаться до 10^8 КОЕ/мл патогенных микроорганизмов, субклиническими маститами – до 10^5 КОЕ/мл [967]. При заболевании коровы стафилококковыми маститами энтеротоксины могут образовываться уже в вымени даже при небольшой плотности популяции стафилококков [775]. Размножение микроорганизмов в молоке во время нахождения его в вымени может привести к полной утилизации природных ингибиторных систем молока уже в вымени, что вызовет сокращение продолжительности или исчезновение бактерицидной фазы.

Широко распространено мнение о снижении активности микрофлоры заквасок в маститном молоке. Исследования в сырьевом отделе ВНИИМС показали, что микрофлора мезофильных заквасок для производства мелких сыров обладала кислотообразующей активностью, более высокой в течение первых 6 ч и равной – в течение 12 ч инкубирования в пастеризованном и стерилизованном сборном молоке, содержащем 10–30% маститного молока, по сравнению с их активностью в молоке, к которому не добавляли маститного молока [1697]. Стимулирующий эффект

маститного молока на микрофлору закваски легко объяснить более высоким содержанием в нем низкомолекулярных продуктов протеолиза и действием каталазы, ингибиторное действие, очевидно, связано с повышенным содержанием сывороточных белков и лизоцима. По-видимому, неоднозначность действия примесей маститного молока в сборном на микрофлору закваски и различия в постановке опытов являются причиной разноречивых мнений в литературе по этому вопросу.

Главным условием заболевания коров маститами являются механические повреждения тканей вымени, в т. ч. обусловленные конструктивными недостатками доильного оборудования и нарушениями правил его эксплуатации, содержание больных коров вместе со здоровыми, низкая гигиена получения молока, особенно плохая подготовка вымени, в частности отсутствие дезинфекции сосков, неполное выдаивание.

Изменения в составе молока туберкулезных коров схожи с изменениями в маститном молоке [1340]. Есть мнение, что молоко от коров с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, эндометритами, ящуром, пироплазмозами, ацетонемией, белковыми отравлениями может приобретать горький и прогорклый вкус [1659]. Молоко при этих заболеваниях коров не подлежит переработке на пищевые продукты.

При инфекционных заболеваниях кишечного тракта возбудители не попадают в молоко в организме коровы, но в этих случаях происходит массивное загрязнение патогенной микрофлорой среды на фермах через навоз. Из окружающей среды через оборудование, кожные покровы коров, воздух патогенная микрофлора может попадать в молоко, а жидкий стул коров при кишечных расстройствах способствует загрязнению молока.

7.5. Пороки молока

Пороки молока подробно разобраны в литературе [1593], поэтому в данной работе остановимся только на нескольких наиболее распространенных пороках сырого молока, которые могут оказать существенное влияние на качество сыра.

Пороки, передаваемые через организм коровы. Посторонние привкусы и запахи в молоке могут возникнуть при попадании специфических веществ из кормов и окружающей среды в молоко во время нахождения его в вымени коровы. Перенос этих веществ в молоко может происходить через дыхательный и пищеварительный тракты, кровяной поток [960]. Летучие соединения из окружающей среды и газовой фазы рубца через легкие коровы очень быстро переносятся в молоко: летучие и нелетучие соединения из кормов передаются в молоко через пищеварительный тракт много медленнее. После очистки вдыхаемого коровой воздуха от летучих соединений начинается обратный процесс их удаления из молока через кровь и легкие. Отсюда вытекает правило: для предотвращения в молоке кормовых привкусов, в частности силосного, силос и другие корма, богатые летучими компонентами, нужно скарм-

ливать коровам не ранее чем за 4 ч до дойки. Кормовые привкусы и запахи часто возникают при переходе со стойлового на пастбищное содержание скота (травяные запах и вкус), при скармливании коровам недоброкачественных кормов (плесневелых, прогорклых, гнилых) или при включении в рацион больших количеств какого-либо одного корма (капусты, свеклы, картофеля и др.) [1593].

В мировой литературе из кормовых пороков выделяют пороки, связанные с поеданием коровами некоторых сорняков, в частности дикого лука, чеснока и др. (разд. 7.4.3 и гл. 12). Характер этих пороков зависит от вида поедаемого сорняка. Специфические вкусовые компоненты этих трав обладают низкой летучестью и медленно удаляются через легкие. Они выделяются из пищеварительного тракта в молоко до тех пор, пока не будут разрушены. Этот процесс занимает до 12 ч. Для предотвращения появления пороков этого рода, делающих молоко несыропригодным, необходимо очищать пастбища и сенокосные угодья от сорняков.

Хлевный привкус и запах. При отсутствии или недостаточной вентиляции запахи скотного двора через легкие коровы передаются в молоко. Неизвестно, передается ли этот порок сыру.

Коровий привкус и запах. Причинами появления является заболевания коров кетозами или ацетонемия, высокая концентрация ацетона в силосе. Этот запах проявляется при дыхании больных коров настолько сильно, что может передаваться молоку коров в соседних стойлах при недостаточной вентиляции скотного двора.

Абсорбируемые запахи (лекарственные, запахи химикатов, нефтепродуктов). Эти запахи молоко может абсорбировать непосредственно из воздуха, если оно длительное время находится в негерметичной таре в одном помещении с источниками этих запахов. Запахи абсорбируются главным образом жировой фазой, поэтому отстой сливок стимулирует абсорбцию. Меры предотвращения – хранение молока в помещениях, где нет других материалов.

Запахи химикатов могут передавать молоку остатки моющих и дезинфицирующих средств при плохом ополаскивании оборудования и молокопроводов после санитарной обработки. Это особенно опасно, так как остатки моющих и дезинфицирующих средств ингибируют рост микрофлоры заквасок.

Запах нефтепродуктов может абсорбироваться молоком во время транспортировки.

Горький вкус. Горький вкус может быть вызван расщеплением белков молока микроорганизмами (психротрофами, *Ent. faecalis subsp. liquefaciens* и др.), поеданием коровой горьких растений, содержащих алкалоиды. Горечь в молоке микробиологического происхождения может появиться при высоком уровне развития посторонней микрофлоры, когда молоко будет непригодно для переработки и по другим показателям. Опасность развития этой микрофлоры в молоке заключается в накоплении в молоке термостойких протеолитических энзимов, которые проявят

свое действие непосредственно в сыре, и накоплении термостойких клеток самих микроорганизмов (*Ent. faecalis* выдерживает пастеризацию молока и хорошо размножается в сыре пока в нем есть лактоза).

Прогорклый, липолизный вкус. Его часто путают с горьким вкусом, но прогорклый вкус обязательно сопровождается соответствующим запахом, а горький нет. Материальным носителем прогорклого вкуса являются продукты липолиза под действием липаз микроорганизмов (главным образом психротрофов) и молока, концентрация которых в молоке возрастает в конце лактации и при заболеваниях маститами. Причиной повышенного липолиза может быть и химическое окисление липидов, которое стимулируется интенсивным механическим воздействием на молоко, повышенным содержанием в нем меди, обогащением молока воздухом, выдержкой молока на свету. Повышенный липолиз в молоке можно не заметить, но в сыре он проявится, поскольку продукты частичного липолиза быстрее расщепляются в сыре, а микробиологические липазы и липопротеиназы выдерживают пастеризацию. Schwab (1978) показал, что прогорклое молоко ингибирует размножение и кислотообразующую активность термофильных заквасок из-за наличия в нем лауриновой кислоты, а миристиновая кислота, наоборот, стимулирует молочнокислые бактерии. Эти пороки могут передаваться сыру. В хорошо созревшем сыре пороки, вызываемые липолизом в молоке, могут быть незаметными, они проявляются в недостаточно зрелых сырах.

Солодовый запах и вкус (подгорелый, карамельный, кулинарный). Причиной порока является размножение в молоке *Lc. maltigenes*, образующего 3-метилбутанол [746]. В молоке этот порок появляется, когда количество возбудителя достигнет 10–100 млн./мл, т. е. когда оно становится непригодным для выработки сыра по общему содержанию бактерий. Однако в сырах порок обнаруживается часто: по-видимому, причиной этого является размножение возбудителя непосредственно в сыре. Главным источником обсеменения молока *Lc. lactis subsp. maltigenes* является плохо вымытое и продезинфицированное оборудование в сочетании с медленным или недостаточным охлаждением молока.

7.6. Контроль качества молока при закупке

Молоко на заводах контролируют по химическим, физическим и микробиологическим показателям в соответствии с ГОСТ «Молоко коровье. Требования при закупках» и Технологическими инструкциями по производству сыров. Результаты части анализов, выполняемых при оценке молока, используют для непосредственной сортировки молока (органолептическая оценка, кислотность, содержание соматических клеток, степень чистоты), остальные – для характеристики молока отдельных производителей и принятия мер по улучшению качества поставляемого ими молока.

Приемке подлежит молоко, доставленное в опломбированном виде в чистой и исправной таре с наличием резиновых колец под крышками фляг и цистерн, заглушек и чехлов на патрубках цистерн.

В п. 1.1 стандарта декларируется, что молоко должно быть получено от здоровых животных в хозяйствах, благополучных по инфекционным болезням в соответствии с правилами ветеринарного законодательства, и по качеству соответствовать требованиям настоящего стандарта». Наряду с сырым, ГОСТ 1988 г. вводит понятие «молоко коровье, подвергнутое в хозяйстве термической обработке», к которому относят молоко, полученное от коров в неблагополучных по инфекционным болезням хозяйствах и разрешенное для использования в пищу ветеринарным законодательством. Такое молоко в соответствии со стандартом и ветеринарным законодательством должно быть подвергнуто в хозяйстве термической обработке сразу после дойки и охлаждено до температуры не выше 10° С. Оно может закупаться как несортовое, если по остальным показателям соответствует сортовому сырому молоку. Для производства твердых сыров такое молоко непригодно, поскольку режимы его термической обработки, устанавливаемые ветеринарным законодательством, выше допускаемых в сыроделии. Загрязнение такого молока вредной микрофлорой во время транспортировки опаснее, чем загрязнение сырого молока, поскольку в нем уничтожена сапрофитная микрофлора, ингибирующая рост посторонней микрофлоры.

Здоровье коров должно быть подтверждено свидетельством, выдаваемым ветеринарным специалистом. Не подлежит переработке молоко от хозяйств, неблагополучных по бруцеллезу, туберкулезу, ящуру, листериозу, сальмонеллезу.

ГОСТ также предусматривает объективный показатель для общей оценки состояния здоровья коров производителя молока – количество соматических клеток, которое для молока высшего и первого сорта должно быть не выше 500 тыс./мл. В молоке с содержанием соматических клеток 500 тыс./мл уже происходят нежелательные для сыроделия изменения состава и свойств. В Германии оценивают состояние здоровья коров в стаде при наличии в сборном молоке не более 125 тыс./мл соматических клеток как очень хорошее, при 125–250 тыс. – хорошее, при 250–350 – удовлетворительное при 350–500 тыс. – могущее представлять опасность для качества сыра, при 500–750 тыс. – неудовлетворительное и более 750 тыс. – плохое. В странах ЕЭС с 1989 по 1993 г. предельной нормой ССК в сыром молоке было 500 тыс./мл, а с 1993 г. – 400 тыс./мл [1261]. Таким образом, потребовалось 4 года напряженной работы по улучшению здоровья коров для того, чтобы снизить норматив ССК на 100 тыс./мл.

Стандартом запрещается приемка молока, полученного за 10 дней до запуска и в течение 7 дней после отела. В Австралии такие ограничения сделаны для молока за 15 дней до запуска и в течение 10 дней после отела.

Сам момент запуска требует какого-то объективного критерия, поддающегося контролю. В некоторых странах молоко не используют в пищевых целях при снижении суточного удоя от коровы до 2 л. Объективным, хотя и неспецифическим, методом определения примесей в сборном молоке молозива и стародойного молока является количество соматических клеток, которое будет возрастать при наличии этих примесей.

Закупаемое молоко должно быть натуральным, не содержать ингибирующих и нейтрализующих веществ (в пределах чувствительности метода); содержание в нем тяжелых металлов, афлатоксина M_1, остаточных количеств пестицидов не должно превышать максимально допустимого уровня, утвержденного Минздравом; иметь плотность не ниже 1027 кг/м^3, температуру не выше 10° С при сдаче-приемке на предприятиях молочной промышленности и не выше 6° С при сдаче-приемке в хозяйстве. Следует отметить непоследовательность отечественного стандарта на закупаемое молоко: *после декларации* в п. 1.2.1 обязательного охлаждения молока в пункте 1.2.7 разрешено принимать молоко с температурой выше 10° С, если по другим показателям оно отвечает требованиям, предъявляемым к сортовому молоку, с соответствующей скидкой с закупочной цены.

Молоко для выработки сыров должно иметь кислотность не ниже 16 и не выше 18° Т. Во многих странах, где глубокое охлаждение молока после дойки – обязательное условие для его закупки молочными заводами, кислотность молока при закупках не контролируется. Действительно, при низких температурах в молоке размножаются психротрофные бактерии, которые кислотность его не повышают. Однако для сыроделия важна не только верхняя, но и нижняя граница кислотности молока. Кислотность молока ниже 16° Т – косвенное свидетельство его ненормального состава, обусловленного заболеваниями, недостаточностью или несбалансированностью рационов. По данным финской фирмы «Валио», в молоке для производства сыра контролируется pH, который должен быть в пределах 6,65–6,70; в сырах из молока с pH ниже 6,5 появляются пороки.

Бактериальная обсемененность молока определяется редуктазной пробой (табл. 7.24). Достоинство этого метода – быстрота и простота, недостаток – невысокая точность, возможность фальсификации результатов путем умышленного или случайного внесения в молоко ингибиторов. Последний недостаток обусловливает необходимость проведения этой пробы параллельно с пробой на ингибиторы. При наличии ингибиторов молоко бракуется независимо от результатов редуктазной пробы. Во многих странах общее количество бактерий в сыром молоке определяют более точным чашечным методом. Переход на этот метод возможен при наличии микробиологических лабораторий на всех молокоперерабатывающих предприятиях.

Для выработки сыров стандартом 1988 г. предусмотрено использовать молоко только высшего и первого сортов с содержанием не более 500 тыс./мл бактерий; по технологической инструкции допускается ис-

пользовать в сыроделии также молоко II класса по редуктазной пробе, содержащее до 4000 тыс./мл бактерий. Это очень мягкий норматив. Согласно Австралийскому пищевому кодексу 1987 г. общее количество бактерий в сыром молоке не должно было превышать 150 тыс./мл. В странах ЕЭС с января 1989 г. общее количество бактерий в сыром молоке должно было быть не более 300 тыс./мл, а с 1.01.93 – не более 100 тыс./мл [73, 1372].

7.24. Оценка бактериальной загрязненности молока по редуктазной пробе

Класс молока	Время обесцвечивания молока с метиленовой синью, ч	Проба с резазурином		Ориентировочное кол-во бактерий, тыс. КОЕ/мл
		Время изменения цвета, ч	Окраска молока	
Высший	более 3,5	1,5	Серо-сиреневая до сиреневой со слабым серым оттенком	до 300
I	3,5	1	Серо-сиреневая до сиреневой со слабым серым оттенком	от 300 до 500
II	2,5	1	Сиреневая с розоватым оттенком или ярко-розовая	от 500 до 4000
III	40 мин	1	Бледно-розовая или белая	до 20000

ММФ рекомендует снижать закупочную цену за молоко, содержащее от 100 до 250 тыс. бактерий в 1 мл на 1,5%, более 250 тыс./мл – на 3% [73]. В Нидерландах считают, что в сыром молоке, полученном в хороших гигиенических условиях, общее содержание бактерий должно быть не выше 100 тыс./мл, а повышение их содержания до 500 тыс./мл и более представляет опасность для сыроделия [784]. Специалисты фирмы «Валио» полагают, что пороки сыра появляются, когда общее количество бактерий в сыром молоке превышает 10^6 мл$^{-1}$. Молоко с таким содержанием бактерий в Финляндии относят к третьему, самому низкому сорту, а в молоке высшего качества – сорт Е – должно быть не более 50 тыс./мл бактерий (Kapster, 1988).

Повышение общего содержания бактерий в молоке до определенного предела не опасно, если в микрофлоре молока доминируют молочнокислые бактерии, а кислотность молока не превышает норму. ГОСТом нормировано содержание в молоке, предназначенном для выработки сычужных сыров, спор мезофильных анаэробных лактатсбраживающих бактерий (маслянокислых бактерий), которое должно быть не более 10 спор/мл (для крупных сыров – не более 2 спор/мл). Это необходимо, так как споры маслянокислых бактерий не выявляются редуктазной пробой, а между их количеством и общим количеством бактерий в молоке нет корреляции, что обусловлено специфичностью источника заражения молока спорами анаэробов и неспособностью маслянокислых бактерий размножаться в сыром молоке. В Финляндии в молоке для

производства крупных сыров должно быть менее 1 спор/мл маслянокислых бактерий, в Нидерландах – не больше 20 спор/мл [784].

В молоке для выработки твердых сыров необходимо нормировать содержание психротрофов, которые ухудшают сыропригодность молока при содержании более $(1–2)\cdot10^6$ мл$^{-1}$. Это особенно важно, потому что в молоке, хранимом при низких температурах длительное время, психротрофы являются доминирующей микрофлорой, а редуктазной пробой они не выявляются.

Во многих странах молоко контролируют по содержанию БГКП, которые служат индикатором гигиенических условий его получения. В Нидерландах в молоке допускается не более 30 клеток/мл колибактерий [784], в Австралии – не больше 100 клеток/мл колиформ.

В ГОСТе для оценки качественного состава микрофлоры сырого молока и свойств сычужного сгустка предусмотрена сычужно-бродильная проба: молоко для сыра должно быть не ниже 2 класса по этой пробе. Интересно, что наличие в молоке ингибиторов завышает результаты редуктазной и занижает показатели сычужно-бродильной пробы, поскольку газообразующая микрофлора, снижающая класс молока по сычужно-бродильной пробе, более устойчива к ингибиторам, чем молочнокислые бактерии, размножение которых улучшает характеристики сгустка. Исследования ВНИИМС (Перфильев, 1998) показали, что эта проба дает сравнимые результаты сычужной свертываемости молока только при использовании стандартизированного по активности препарата молокосвертывающего энзима. В связи с пастеризацией молока ценность этой пробы как показателя бактериального качества молока, сомнительна.

Массовые доли жира и белка в молоке должны соответствовать базисным нормам, за увеличение содержания этих компонентов по отношению к базисном предусматриваются надбавки к закупочной цене. Для производства сыра необходимо отбирать молоко с содержанием белка 3,2% и выше, однако этот показатель пока не нормирован.

7.7. Заключение

Эффективность сыроделия обусловливается выходом и качеством сыра. Решающую роль в обеспечении высокого уровня этих показателей играет молоко. Оно как сырье для производства сыра должно удовлетворять четырем основным требованиям:

- нормально свертываться сычужным энзимом или его заменителями с образованием прочного сгустка, хорошо отдающего сыворотку и прочно удерживающего казеин и молочный жир;
- быть хорошей средой для жизнедеятельности необходимой микрофлоры;
- не содержать или содержать минимальное количество технически вредной и патогенной микрофлоры;
- не содержать несвойственных нормальному молоку веществ.

Эти требования реализуются через химический состав молока, а также через количественный и качественный состав его микрофлоры. Химический состав зависит от породы и здоровья животных, кормления, стадии лактации, микрофлоры сырого молока; качественный и количественный состав микрофлоры обусловлены экологическими условиями, уровнем гигиены производства молока, продолжительностью и температурой его хранения и транспортировки.

Из химических факторов наибольшее значение для сыроделия имеют содержание, фракционный и, в определенной степени, генотипический состав казеинов в молоке, содержание жира, отсутствие ингибиторов развития необходимой микрофлоры, содержание кальция и фосфора. Молоко нормального состава можно получить только от здорового животного при полноценном кормлении. Несоблюдение этих требований, в частности, заболевания коров маститами, приводит к снижению содержания в молоке казеина, жира, кальция и фосфора и, как следствие, к снижению степени использования компонентов молока и ухудшению качества сыра, а в крайних случаях – к невозможности выработать из такого молока сыр. Степень нежелательных для сыроделия изменений в молоке при маститах пропорциональна содержанию соматических клеток в интервале от 0,3 до 7,3 млн./мл [380]. Содержание казеина в молоке для выработки твердых сыров должно быть не ниже 2,5%. В зонах сыроделия при селекции молочного скота нужно учитывать не только суммарный выход жира и белка за лактацию, но и концентрацию белка или казеина в молоке.

Безусловное требование к молоку – отсутствие токсичных соединений в количествах, превышающих установленные нормативы.

Из микрофлоры молока наибольшую опасность для сыроделия представляют маслянокислые и психротрофные бактерии. Маслянокислые бактерии способны испортить твердые сыры при наличии в молоке 1–2 спор/мл. Для предупреждения маслянокислого брожения в сырах коровам можно скармливать силос, содержащий не более тысячи спор *Cl. tyrobutyricum*, при условии строгого соблюдения правил гигиены.

Психротрофные бактерии при размножении в молоке образуют протеолитические и липолитические энзимы, не разрушаемые пастеризацией, которые в сырах вызывают ряд пороков (горький, прогорклый, нечистый, фруктовый вкус и др.).

Обязательным условием получения сыропригодного молока является его охлаждение не позднее чем в течение 2 ч после дойки. Молоко следует охладить до температуры не выше 10° С при хранении в течение не более суток и до 4–5° С при более длительном хранении. Охлаждение сохраняет сыропригодность только молока, полученного в надлежащих гигиенических условиях (с начальным содержанием до 100 тыс./мл бактерий).

Наиболее обильными источниками обсеменения молока микроорганизмами являются плохо вымытое и продезинфицированное доильное оборудование, инвентарь, молокопроводы. Основным источником заражения сборного молока патогенной микрофлорой является маститное молоко.

ГЛАВА 8

ТЕХНОЛОГИЯ, МИКРОФЛОРА И БИОХИМИЯ СЫРОВ, СОЗРЕВАЮЩИХ В АЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ

8.1. Особенности технологии

Сыры можно разделить на созревающие только с участием молочнокислых и молочнокислых совместно с пропионовокислыми бактериями (анаэробное созревание) и такие, в созревании которых кроме факультативных анаэробов активную, и даже доминирующую роль играет аэробная микрофлора (аэробное созревание). Изменения в слоях сыра, контактирующих с воздухом, вызываемые развитием поверхностной микрофлоры, в той или иной степени распространяются по всей массе сыра, что обусловливает формирование специфических для данного сыра органолептических показателей. К созревающим в аэробных условиях относятся многие виды мягких и некоторые виды полутвердых сыров комбинированного анаэробного и аэробного созревания (табл. 1.5). По типу основной культивируемой аэробной микрофлоры сыры аэробного созревания делят на грибные (плесневые) и слизневые.

Сыры являются хорошей средой для развития аэробных бактерий, широко распространенных в окружающей среде, в том числе технически вредных и патогенных микроорганизмов, поэтому на незащищенных от воздуха поверхностях сыров начинается бурный рост аэробной и факультативно анаэробной микрофлоры. Первоначальная причина появления сыров этого класса, скорее всего, заключалась в необходимости подавления развития «дикой» микрофлоры на поверхности сыров. Задача эта еще до недавнего времени была достаточно сложной. Одним из путей ее решения было занятие данной экологической ниши микрофлорой, не только не снижающей показатели реализации и безопасности сыра, но и придающей ему новые свойства, которые могут быть полезными и понравятся потребителям. Реализацией этой идеи было появление сыров с аэробным созреванием. Сейчас проблема подавления роста аэробной микрофлоры на поверхности сыра решена (использование специальных пленок, покрытий с фунгицидными добавками). Однако существует устойчивый спрос на сыры, созревающие в аэробных условиях, обладающие специфическими органолептическими показателями. Поэтому задача избирательного подавления развития аэробной микрофлоры в производстве сыров с аэробным созреванием, заключающаяся в создании условий для роста необходимой и подавления развития вредной микрофлоры, остается. Успешное ее решение – необходимое условие для производства сыров, созревающих в аэробных условиях.

Состав микрофлоры сыров регулируют условиями их выработки и созревания. Одно из основных положений экологии гласит: везде есть все, выбирают условия [1445]. Условия в сырах, как отмечено выше, должны обеспечить оптимальный рост необходимой и максимально возможное ингибирование вредной микрофлоры. В анаэробно созревающих сырах создать такие условия легче, поскольку сами анаэробные условия подавляют рост большинства микроорганизмов, способных причинить вред сыру. Кроме этого, меры, принимаемые для создания анаэробиоза в сырах, служат механической преградой бактериальному загрязнению сыра во время созревания.

Сыры, созревающие в аэробных условиях, включают (табл. 1.5):

- *полутвердые сыры*, созревающие при участии естественно складывающегося сообщества микроорганизмов – «сырной слизи» (Пикантный, Латвийский, Тильзит, Брик);
- *мягкие сыры, созревающие при участии микрофлоры сырной слизи* (Дорогобужский, Дорожный, Нямунас, Лимбургский, Трапист, Мюнстер и др.);
- *мягкие сыры, созревающие под воздействием плесневых грибов*, размножающихся на поверхности сыра (русский Камамбер, Белый десертный, Камамбер, Бри и др.);
- *мягкие сыры с плесенью*, размножающейся по всей массе сыра (Рокфор, Голубой, Голубой прожилочный, Стильтон и др.).

Следует отметить, что некоторые сыры занимают промежуточное положение. Так, например, в производстве сыров Смоленский, Любительский зрелый [1539] принимает участие микрофлора сырной слизи и плесневых грибов, микрофлора сырной слизи часто участвует в созревании и таких сыров, как Камамбер и Бри, которые традиционно относят к плесневым сырам, поскольку роль плесневых грибов в формировании их потребительских свойств выше, чем роль слизи. Особенно часто микрофлора слизи появляется в плесневых сырах, вырабатываемых из сырого молока [888].

Аэробные условия для сыров, созревающих при участии плесневых грибов и микрофлоры сырной слизи, создаются тем, что их поверхность ничем не защищается от контакта с воздухом. От продолжительности выдержки сыра в камерах для созревания в контакте его поверхности с воздухом зависит степень выраженности их специфического вкуса и аромата, обусловленных развитием поверхностной микрофлоры. Так, Пикантный сыр выдерживают со слизью только 10–20 сут, после чего сыр моют и парафинируют. Этот сыр имеет умеренно выраженный вкус и аромат, присущие слизневым сырам. Слизневые сыры с более полно выраженным вкусом и ароматом созревают под слизью до 2-х мес, после чего их парафинируют.

В сырах, созревающих с участием плесени, растущей в тесте сыра, аэробные условия внутри головки создают путем прокалывания головок

[1539]. Прокалывание проводят через 3–5 сут после посолки, с тем чтобы дать возможность соли проникнуть во внутренние слои сыра. Перед прокалыванием с поверхности отечественного Рокфора удаляют слизь, промывая сыры слабым раствором соли или слегка соскабливая с плоских поверхностей головок ножом слой слизи толщиной 0,1–0,2 мм. Сыры прокалывают проколочной машиной с иглами из нержавеющей стали. На каждой головке сыра делают 30–40 проколов, расположенных равномерно, кроме полосы по окружности шириной 2 см (для сохранения целостности головки). Иногда в случае медленного развития плесени (из-за недостаточной пористости или низкой кислотности сырной массы, плохой всхожести спор) головки прокалывают дважды, что нежелательно, так как при прокалывании сыр можно заразить посторонней микрофлорой. Перед прокалыванием иглы обсеменяют спорами плесневых грибов.

Дополнительно к прокалыванию для улучшения условий для роста плесневых грибов во всем интерьере сыра повышают его пористость путем увеличения содержания лейконостоков в закваске [730]. Показателем степени пористости сырной массы может служить отношение ее объема к весу, оптимальная величина которого, зависящая от вида сыра, качества молока и свойств используемого штамма плесневого гриба, должна быть установлена на каждом предприятии, вырабатывающем сыры этого класса. Содержание лейконостоков существенно зависит от технологии приготовления производственной закваски. Температуру приготовления закваски, содержащей лактококки и лейконостоки, следует поддерживать на уровне 22–23° С – оптимальной температуры для роста лейконостоков в смешанных культурах.

При производстве отечественного Рокфора, который вырабатывают из пастеризованного коровьего молока (традиционный Рокфор вырабатывают из сырого овечьего молока), молоко после внесения закваски выдерживают до нарастания кислотности до 23–25° Т [1539] и только после этого в него вносят молокосвертывающие энзимы. Эту выдержку также следует проводить при оптимальной температуре для лейконостоков.

Очень удобно лейконостоки вносить в молоко непосредственно в сырной ванне в виде замороженных или сухих концентратов. При использовании концентратов лейконостоков доля сыров с замкнутой структурой снизилась с 22,6 до 1,7%, а доля сыров с нормальным развитием плесени возросла с 75,1 до 96,8% [236]. Пустоты в сырной массе при производстве сыров с развитием плесневых грибов во всей массе могут образовывать и лактозоферментирующие дрожжи, но их рост может вызывать пороки вкуса сыра.

Каких-либо специальных требований к закваске для производства слизневых сыров и сыров с плесенью на поверхности не разработано. Эти сыры, обычно, вырабатывают на закваске лактококков. Итальянский сыр Талледжио вырабатывают на закваске, содержащей болгарскую палочку и термофильный стрептококк, в производстве некоторых французских сыров (Мюнстер, Мароль, Сен-Полен, Голубой) иногда используют тер-

мофильные молочнокислые бактерии. Молоко для сыров типа Рокфор часто подвергают раздельной гомогенизации [1496, 1497, 1539]. Гомогенизация уменьшает отход жира в сыворотку, улучшает консистенцию и вкус сыра. В сыре из гомогенизированного молока намного быстрее идет накопление свободных жирных кислот, играющих важную роль в формировании вкуса и аромата плесневых сыров (рис. 8.1) [552, 1748]. При раздельной гомогенизации молоко сначала сепарируют, затем сливки гомогенизируют вначале при 90–100 атм, потом при 30 атм. Гомогенизируют 30–50% сливок от их количества, необходимого для приготовления смеси для выработки сыра, так как гомогенизация всех сливок может слишком ускорить липолиз и привести к появлению прогорклого вкуса. Выход Рокфора из гомогенизированного молока повышается на 8–9% [1539].

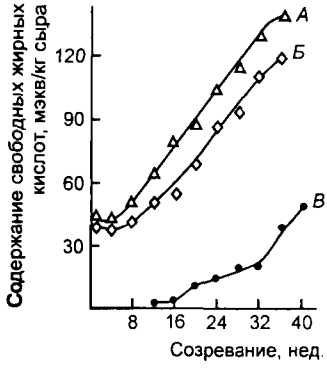


Рис. 8.1. *Влияние обработки молока на ход липолиза в сырах типа Голубого. Накопление свободных жирных кислот в сырах, изготовленных из: А – гомогенизированного молока; Б – пастеризованного и гомогенизированного молока; В – необработанного молока*

Важнейшим фактором, регулирующим состав микрофлоры и активность энзимов в сыре, является активная кислотность. В твердых сырах с анаэробным созреванием минимальный pH сырной массы равен 5,2–5,3; в сырах с повышенным уровнем молочнокислого брожения – 4,9–5,2; в сыре Брик – 5,0–5,2; в Лимбургском – меньше 5,0; в Мюнстере – 4,9–5,1; в сырах, созревающих при участии плесневых грибов, – 4,5–4,6; в отечественных слизневых сырах он равен 5,1–5,2; сырах с поверхностной плесенью – 4,6–5,0; в отечественном Рокфоре 4,7–4,9 [391, 888, 1539]. Таким образом, *в большинстве сыров, созревающих при участии аэробных микроорганизмов, минимальный pH ниже, чем в сырах с анаэробным созреванием*. Такой pH значительно ингибирует или подавляет рост патогенных и гнилостных бактерий.

Сыры с аэробным созреванием отличаются от сыров, созревающих в анаэробных условиях, не только минимальным pH. Во всех сырах pH во время созревания изменяется в результате жизнедеятельности микрофлоры и биохимических процессов, но если в анаэробно созревающих сырах он изменяется в сравнительно небольших пределах (от 4,9 до 5,6), то в аэробно созревающих сырах диапазон изменения pH простирается от 4,5 до 7 и выше (рис. 8.2; 8.4; 8.6). Это оказывает огромное

влияние на микрофлору этих сыров и обеспечивает возможность более полного использования потенциала микробиальных энзимов, что выражается в формировании разнообразного и выраженного вкуса, аромата и консистенции сыров. Так, например, оптимальный pH для большинства протеиназ лежит в диапазоне от 5,5 до 6,5, а липаз – 6,5–7,5 [1252]. С целью повышения активной кислотности и ускорения созревания сыры, созревающие в аэробных условиях, вырабатывают с повышенным содержанием влаги. Если максимальное содержание влаги в большинстве твердых сыров не превышает 42%, то содержание влаги в полутвердых сырах, созревающих с участием микрофлоры сырной слизи, равно 44–46%, в мягких сырах – 46–82%, в т. ч. в слизневых сырах – 46–65%. Оптимальная влажность сыров зависит от содержания жира: в сыре Ромадур с содержанием жира в сухом веществе от 20 до 50% оптимальное содержание влаги лежит в интервале от 61 до 50%, в Лимбургском сыре с содержанием жира в сухом веществе 20 и 40% оно равно соответственно 58,8 и 51,7% [888]. Сыры с неадекватным содержанием влаги часто имеют неоднородную консистенцию, атипичный, нечистый вкус.

Для повышения активной кислотности и содержания влаги в сырах с аэробным созреванием сгусток в течение более длительного времени выдерживают до разрезки, что повышает его прочность и снижает скорость синерезиса, увеличивают размеры зерна, формование проводят наливом, большинство таких сыров вырабатывают без прессования под действием внешних нагрузок. Чем больше влаги останется в сыре, тем больше в нем будет лактозы, тем выше будет содержание молочной кислоты.

Более высокое содержание влаги в этих сырах позволяет несколько повысить температуру пастеризации молока без ухудшения качества сыра (основной недостаток пастеризации молока при повышенных температурах заключается в снижении скорости синерезиса). При выработке отечественных сыров этого класса молоко пастеризуют в зависимости от вида сыра при 76–85° С с выдержкой 20–25 с [1539]. Более жесткие режимы пастеризации не применяют из-за опасности появления горького вкуса. Повышение температуры пастеризации вызывает денатурацию части сывороточных белков молока и вовлечение их в сгусток. Это повышает выход сыра, что в определенной мере компенсирует потери, вызываемые большими затратами ручного труда при производстве этих сыров, а также помогает удерживать влагу в сыре.

Сыры с поверхностной микрофлорой должны иметь небольшие размеры головок. Чем больше отношение площади их поверхности к объему, тем выше будет количество синтезируемых поверхностной микрофлорой энзимов, приходящееся на единицу массы сыра, и сыр будет быстрее созревать. Кроме этого, энзимы и продукты метаболизма поверхностной микрофлоры более равномерно распространяются в сырной массе, что обеспечивает одинаковые органолептические показатели сыра в любом месте головки. Масса головок отечественных сыров с поверхностной микрофлорой составляет от 0,065 до 2,0 кг. Сыры с

массой головки 2 кг имеют форму низкого цилиндра (6–8 см высотой) с большим диаметром, что ускоряет диффузию энзимов с поверхности вглубь сыра. Исключением является большой Пикантный сыр, масса головки которого составляет 3–4 кг, что сделано для того, чтобы уменьшить степень выраженности «слизневелого» вкуса и аромата, что привлекает определенный круг потребителей.

Сыры с аэробным созреванием солят в рассоле или натиранием поверхности сыра сухой солью. В любом случае концентрация соли в поверхностных слоях сразу после посолки будет высокой (12–13% в водной фазе) [8]. Максимальное содержание соли в зрелом возрасте для большинства отечественных видов слизневых сыров равно 2,5%. *Высокая концентрация соли в поверхностных слоях – второй после повышенной кислотности фактор защиты сыров с аэробным созреванием от вредной микрофлоры, однако действует он только определенное время после выработки сыра.*

Грибные сыры с ростом плесени по всему интерьеру по сравнению со слизневыми подвергают более интенсивной посолке. Так, в отечественном Рокфоре допускается до 5% соли, что в 2–2,5 раза выше, чем в слизневых сырах. Это обусловлено тем, что в процессе созревания заражение слизневых сыров посторонней микрофлорой может произойти только на их поверхности, где содержание соли в водной фазе долгое время поддерживается на высоком уровне за счет медленной диффузии соли вглубь сыра. В сырах типа Рокфор посторонняя микрофлора может проникнуть во внутренние слои сыра через отверстия, предназначенные для аэрации, поэтому посолка их должна быть более интенсивной для ускорения проникновения соли внутрь сыра. При недосоле в сырах появляются посторонние привкусы, при пересоле они медленнее созревают [1539]. Последнее обусловлено задержкой роста *Pen. roqueforti* при повышении содержания соли: при содержании до 4% соли видимый рост плесени в сыре Рокфор появляется на 4–6 сут созревания, при 8% – на 8 сут [367].

Третьим фактором являются отношения между различными группами микроорганизмов, размножающихся на поверхности сыров, которые могут быть и антагонистическими, и симбиотическими. К сожалению, эти отношения практически не исследованы. Следует отметить, что стафилококки и БГКП, которые могут появиться в плесневых сырах на первых стадиях созревания, очень быстро в них вымирают [391].

Для развития микроорганизмов необходимо определенное количество доступной влаги [913]. Мерой доступности воды является активность воды ($A_в$). Доступная вода – это общая вода минус вода, связанная солью и другими растворенными в водной фазе веществами. В табл. 8.1 показан рост некоторых важных для сыров с аэробным созреванием микроорганизмов в зависимости от содержания в среде поваренной соли и $A_в$ [1016]. Для того чтобы поверхность сыров не обсыхала, созревание сыров с поверхностной микрофлорой проводят в камерах с относи-

тельной влажностью не менее 90% (92–95%). В производстве полутвердых слизневых сыров их некоторое время выдерживают в камерах с относительной влажностью около 90% для наведения тонкой корочки.

***8.1. Влияние $A_в$ и концентрации соли на развитие микроорганизмов, наиболее важных для сыров с аэробным созреванием* [1016]**

Микроорганизмы	Содержание соли, г/100 мл				
	0	5	10	15	20
	$A_в$				
	0,992	0,975	0,947	0,916	0,88
Geotrichum candidum	100[1)]	46,9	–	–	–
Penicillium camemberti	100	80,9	36,4	4,1	1,1
Debaryomyces	100	49,7	30,2	10,5	8,2
Micrococcus saprophyticus 55a	100	96,3	67,92	19,1	–
Micrococcus saprophyticus 55б	84,7	100	61,2	16,7	–
Brevibacterium linens	100	55,5	30	14,7	3,6
Колиформы	100	21,6	–	–	–

[1)] Рост в процентах от максимального уровня; прочерк – нет роста

Температуры созревания зависят от вида сыра: Пикантный сыр созревает при 14–16° С, Латвийский – при – 11–14° С, Дорогобужский – при 12–14° С, «голубые» сыры – при 5–10° С.

Особое внимание нужно уделять уходу за сырами во время созревания. Стеллажи для сыров с поверхностной плесенью должны обеспечивать максимальный контакт поверхности сыров с воздухом. Наиболее пригодны для этой цели стеллажи из нержавеющей стали с тонкими и редкими прутьями. Уход за ними состоит в переворачивании сыров на 3–4 сут созревания для равномерного роста плесени на обеих поверхностях головки и равномерного распределения влаги. 3–5 сут спустя сыры снова переворачивают, на 9–10 сут после образования сплошного и плотного газона плесени их упаковывают и направляют в реализацию.

Сыры с развитием плесени во всей массе сыра во время созревания ставят на ребро, чтобы обеспечить свободную циркуляцию воздуха через проколы, и каждые сутки поворачивают на 90°, чтобы сохранить форму сыра и обеспечить равномерное распределение влаги. Периодически с поверхности сыров удаляют вырастающую слизь, не допуская заплывания проколов. При слишком бурном развитии плесени сыры ставят на плоскую сторону.

В начале созревания слизневые сыры ежедневно (в течение первых трех дней) переворачивают с обтиранием поверхности рукой, смоченной 2–3% раствором поваренной соли, для равномерного распределения по поверхности головки микрофлоры сырной слизи, которая уже попала на сыр во время посолки и с сырных полок [578, 888]. На малых пред-

приятиях сыры размещают на сплошных дощатых стеллажах, которые являются основным источником обсеменения поверхности сыра микрофлорой сырной слизи, и переворачивают каждые двое суток. При внесении микрофлоры слизи в молоко или воду для обтирания сыров сыры могут созревать на обычных решетчатых стеллажах. Подробно технология сыров с аэробным созреванием описана Николаевым [1539].

8.2. Слизневые сыры

8.2.1. Микрофлора слизневых сыров

Слизневые сыры обладают ярко выраженными специфическими органолептическими показателями, в формировании которых решающую роль играет микрофлора сырной слизи. Сырная слизь представляет сообщество солеустойчивых бактерий, размножающихся в аэробных условиях на поверхности сыров, обладающей определенными физико-химическими свойствами, при температурах 11–20° С и относительной влажности окружающей среды 92–95% [525, 526]. Состав микрофлоры слизи меняется по мере созревания сыра.

Микрофлорой сырной слизи массивно заражена среда на предприятиях, которые вырабатывают слизневые сыры. Особенно сильно ею обсеменены рассол, в котором эта микрофлора может размножаться, и помещения, в которых созревают сыры. Во время посолки и далее во время созревания поверхность сыров спонтанно обсеменяется микрофлорой сырной слизи.

При крупномасштабном производстве слизневых сыров применяют препараты микрофлоры сырной слизи, которую выращивают в специальных лабораториях и рассылают сыродельным заводам.

На начальных этапах созревания на поверхности сыров размножаются дрожжи, принадлежащие к родам *Kluyveromyces*, *Debaryomyces*, *Saccharomyces*, *Trichosporon* и др. [391, 888]. Они могут расти при pH от 3,5 до 8,5 и при 15–20% NaCl, хорошо растут при температурах, наиболее благоприятных для созревания сыра [888, 1016]. По Kelly, изучившему динамику роста микрофлоры на поверхности Лимбургского сыра, одного из наиболее характерных представителей слизневых сыров, дрожжи достигают максимума развития на 4–5 день созревания сыра [535]. Начиная с 10–18-суточного возраста, при pH около 6,0 количество дрожжей на поверхности сыров начинает снижаться, однако в небольших количествах они обнаруживаются до конца созревания или до удаления слизи с поверхности сыра. В зависимости от вида сыров на их поверхности в период максимального развития содержится 10^7–10^9 дрожжевых клеток/г [1749]. Внутри сыра их обнаруживается примерно в 100 раз меньше, чем на поверхности.

Дрожжи утилизируют в качестве источника энергии лактаты и тем самым повышают pH сыра. Это создает возможности для размножения основного микроорганизма сырной слизи – *Brevibacterium linens*, входяще-

го в группу «Грамположительные неспорообразующие палочки неправильной формы», род *Brevibacterium* [1552]. От других видов этого рода *Br. linens* отличается при росте на свету желто-оранжевым цветом колоний (колонии других представителей этого рода окрашены в серый цвет), розово-красным окрашиванием биомассы при обработке 5 М КОН (цвет биомассы *Br. linens* обусловливает цвет сырной слизи). В молодых культурах – палочки неправильной формы, размером 0,6–1,2×1,5–6 мкм, одиночные, в парах или V-образные («brevis» в переводе означает «короткая»). В старых культурах распадаются на мелкие кокки. Строгие аэробы. Гидролизуют казеин и желатин. Широко распространены в молочных продуктах, обнаруживаются на коже человека. *Br. linens* плохо растет при pH ниже 5,85 (табл. 8.2) [888]. Максимальная концентрация соли около 12% при 25° С и инкубации в течение около месяца [531]. По другим данным, *Br. linens* может расти при концентрации NaCl до 20% (табл. 8.1) [1016].

8.2. Влияние температуры и pH на рост B. linens

pH	Инкубация, дней	Температура, °С			
		18	25	30	37
5,5	3	–	–	–	–
5,85	2		+		
	3		+		
6,0	2		+		
	3		+		
6,5	2	+	+	+	–
	3	++	++	++	–
7,5	2	+	+	+	–
	3	++	++	+	–

Примечание: «–» – нет роста; «+» – слабый рост; «++» – хороший рост.

Поверхность слизневых и грибных сыров – главные источники обитания *Br. linens*. Интенсивный рост *Br. linens* на поверхности Дорогобужского, Лимбургского сыров начинается на 6 сут созревания [662, 1539]. На поверхности они могут размножиться до 10^9 $г^{-1}$ и более и составить 90–95% микрофлоры сырной слизи [888]. Однако, *Br. linens* не всегда доминирует в составе поверхностной микрофлоры слизневых сыров: их количество зависит от pH сыра и температуры созревания. При температуре 7,7–9,4° С в микрофлоре слизи доминирует *Br. erythrogenes*, при 12,7–14,4° С – *Br. linens* [409]. Это варианты одного и того же вида, отличающиеся цветом образуемого в лакмусовом молоке после длительной инкубации пигмента: *Br. linens* образует желтый, *Br. erythrogenes* – кроваво-красный пигмент. Максимальная температура роста – 30–33° С [531], по другим данным – 38° С; оптимальная – около 21° С. При 62,8° С погибает в течение нескольких минут. *Br. linens* присутствует и во внутренних слоях сыров, созревающих с участием сырной слизи.

В микрофлоре сырной слизи могут быть не только бревибактерии, но и представители другого рода грамположительных неспорообразующих палочек – *Arthrobacter* [1552], обнаруженные в больших количествах на поверхности Лимбургского сыра [292]. В 20–35-суточных сырах их число превышало количество *Br. linens* в 4,2–1,7 раза, хотя с возрастом доля *Br. linens* увеличивалась. *Arthrobacter* представлен микроорганизмами, обитающими в почве, на растениях, рыбе, обнаруживаемыми в сточных водах, подстилке животных. Одной из их особенностей является то, что они имеют вид грамотрицательных палочек в молодых и грамположительных кокков в старых культурах [531]. Роль их в сырах не выявлена.

Br. linens нуждается в пантотеновой кислоте и некоторых витаминах группы В, которые синтезируются дрожжами. Таким образом, дрожжи не только повышают pH поверхностных слоев сыра до благоприятного для роста *Br. linens* уровня, но и синтезируют для него факторы роста.

Br. linens, в отличие от дрожжей и молочнокислых бактерий, обладает высокой активностью в расщеплении аминокислот с образованием ароматических соединений (альдегидов, спиртов, метантиола и его производных, например, тиоэфиров и др.) и умеренной липолитической активностью [607, 644]. Протеолитическая и липолитическая активности *Br. linens* играют важнейшую роль в формировании специфических органолептических показателей слизневых сыров, хотя эта роль изучена недостаточно.

В состав микрофлоры сырной слизи входят микрококки *M. freudenreichii*, *M. caseolyticus* и *M. varians*, которые по численности могут превышать количество бревибактерий [662]. Результаты исследований состава микрофлоры сырной слизи различными авторами сильно отличаются. В табл. 8.3 приведен состав поверхностной микрофлоры Лимбургского сыра, по Mulder et al. [753]. Из приведенных данных видно, что состав поверхностной микрофлоры различных образцов одного и того же вида сыра, определенный одними и теми же авторами, неодинаков, что может быть следствием его непостоянства. Дрожжи стимулируют рост не только *Br. linens*, но и микрококков (табл. 8.4) [644, 662].

***8.3. Состав поверхностной микрофлоры Лимбургского сыра* [753]**

Сыры	Общее кол-во в 1 г корки	Бревибактерии,%			Микрококки,%	Остальные,%
		оранжевые	желтые	серо-белые		
I	$1{,}9 \cdot 10^{10}$	9	2	80	3	6
II	$2{,}6 \cdot 10^{10}$	24	3	65	6	2

Микрококки входят в группу «Грамположительные кокки», род *Micrococcus* [1552]. Это шарообразные, каталазо- и грамположительные бактерии, с размером клеток 0,5–2,0 мкм, все растут в средах с 5 и многие с 10–15% NaCl. Микрококки расположены парами, тетрадами, скоплениями неправильной формы, но не цепочками. Микрококки – строгие

аэробы. Колонии обычно желтые или красные. Метаболизм дыхательного типа. Микрококки окисляют глюкозу до CO_2 и H_2O, кислоту образуют в небольших количествах или не образуют. Оптимальная температура 25–37° С. Растут при температурах 4–7° С. Большинство штаммов обладает высокой казеолитической, аминопептидазной и липолитической активностью.

***8.4. Влияние автолизатов дрожжей на рост микрококков в обезжиренном молоке при комнатной температуре* [662]**

Микрококки	Количество микрококков, в мл					
	Контроль		Автолизат 6		Автолизат 7	
	0 ч	48 ч	0 ч	48 ч	0 ч	48 ч
M. caseolyticus 11	0,28	640	0,19	1400	0,33	1300
M. caseolyticus 32	6,90	1100	6,70	2200	9,60	1700
M. freudenreichii 43	10,00	3800	17,00	7800	14,00	6400
M. varians 22	0,22	490	0,22	1200	0,19	800

На поверхности слизневых сыров могут размножаться плесневые грибы, чаще вида *Geotrichum candidum*. Минимальная температура для его роста – около 5° С, оптимальная – 25° С, максимальная лежит в интервале от 33 до 38° С, оптимальный pH находится в интервале от 5,0 до 5,5 [1749]. Специфическое свойство этого вида – высокая чувствительность к соли: ингибирующее действие на него оказывает уже 1% NaCl в среде, подавление роста происходит при 5–6%. *G. candidum* утилизирует лактаты и тем самым повышает pH сыра. Обладая высокой протеолитической и липолитической активностью, он может оказать влияние на созревание сыров [644]. Однако его роль в слизневых сырах не выяснена и наличие плесневых грибов в микрофлоре сырной слизи пока рассматривается как загрязнение последней.

Размножение на поверхности полутвердых сыров, созревающих при участии сырной слизи, плесневых грибов родов *Cladosporium* и *Penicillium* приводит к образованию черно-коричневых и розово-оранжевых пятен соответственно, проникающих на несколько миллиметров вглубь сыра и очень трудно удаляемых [1614]. Погружение головок в раствор натамицина предотвращает появление порока. Французские ученые считают наиболее приемлемым способом контроля этого вида поддержание на достаточно высоком уровне концентрации соли на начальных этапах формирования корки [1749].

В составе слизи может размножаться *Ent. faecalis subsp. liquefaciens*, вызывающие появления белых пятен; псевдомонады, образующие красные пятна; *Serratia rubidaea*, образующая кроваво-красные пятна [526]. На поверхности слизневых сыров могут размножаться листерии, что требует особой заботы по поддержанию санитарно-гигиенических условий производства [525, 526].

Таким образом, *сырная слизь* представляет сообщество трех необходимых для созревания слизневых сыров групп микроорганизмов: *дрожжей*, *бревибактерий*, в частности *Br. linens*, и *микрококков*. В ней могут быть представлены и посторонние микроорганизмы, которые не нужны для формирования характерных для этих сыров органолептических показателей.

Одной из мер предотвращения роста вредной микрофлоры на поверхности слизневых сыров является замена деревянных стеллажей, плохо поддающихся дезинфекции, пластмассовыми с перфорацией не менее 75% [526].

При соответствующих условиях слизь образуется на поверхности сыров естественным путем. Иногда сыры после выработки натирают суспензией сырной слизи, получаемой из сухих препаратов, вырабатываемых централизованно. В соответствующих лабораториях исходным материалом служат или образцы слизи, отобранные на передовых предприятиях, или чистые культуры *Br. linens*.

8.2.2. Формирование органолептических показателей

Созревание любого сыра – это процесс формирования его органолептических показателей, заключающийся в трансформации лактозы, протеинов и липидов во вкусовые и ароматические соединения под действием молокосвертывающих энзимов и микрофлоры сыра. Природные энзимы молока в сырах из пастеризованного молока играют в созревании незначительную роль. Первый этап биотрансформации компонентов молока заключается в сбраживании лактозы молочнокислыми бактериями, и в принципе он происходит во всех сырах одинаково, за исключением отдельных деталей. Главным отличием сыров с аэробным созреванием от остальных сычужных сыров на этом этапе, как уже отмечалось в разд. 8.1, является более низкий минимальный pH этих сыров. Этот уровень pH выводит данные сыры из области, которая благоприятна для действия энзимов молочнокислых микроорганизмов. Еще более низкий pH имеют кисломолочные сыры, но их производство и заканчивается первым этапом: вкус, аромат, консистенция кисломолочных сыров формируются на основе исходных компонентов молока, продуктов молочнокислого брожения лактозы и утилизации цитратов. Специфические органолептические показатели слизневых и грибных сыров ярко выражены и чрезвычайно сильно отличаются от органолептических показателей других классов сыров, что обусловлено более обширным и глубоким протеолизом и липолизом в этих сырах. Катализаторами этих процессов могут быть только энзимы, образуемые микрофлорой. Вторым этапом аэробного созревания сыров является частичная утилизация кислых продуктов метаболизма лактозы молочнокислыми бактериями закваски – необходимое условие для последующего действия протеолитических и липолитических энзимов, образуемых микрофлорой сыра.

Изменения pH в различных слоях Лимбургского сыра во время созревания показаны на рис. 8.2 (Kelly, Marquardt, 1939) [888]. В близлежащем к поверхности слое pH уже к исходу первых 10 сут созревания повышается с 4,8 до 5,7, тогда как в центре сыра он начал медленно повышаться только после 30 сут, когда в поверхностных слоях он увеличился до больше 6,0. Это доказывает, что повышение pH сыра происходит в результате жизнедеятельности поверхностной микрофлоры. В зрелых отечественных сырах этого класса pH находится на уровне 5,5–5,6, что близко к pH Лимбургского сыра.

С изменением pH коррелирует скорость протеолиза, оцениваемая по увеличению содержания свободных аминокислот, количество которых во внешних слоях было в несколько раз выше, чем во внутренних [862]. То же самое относится и к содержанию летучих соединений. Вкус и аромат сыров были более выраженными, а консистенция более нежной во внешних слоях. В твердых сырах консистенция в центре головки более мягкая и пластичная, чем в поверхностных слоях, так как протеолиз в центральных слоях идет быстрее благодаря более высокой $A_в$. В сырах с поверхностной микрофлорой молочнокислые бактерии также быстрее размножаются в центре головки, но консистенция сыра в поверхностных слоях более нежная, что доказывает основную роль поверхностной микрофлоры в расщеплении белка в этих сырах. Эту функцию она выполняет намного быстрее, чем молочнокислые бактерии в производстве твердых и полутвердых сыров. Протеолитическая активность *Br. linens* и родственных ему видов значительно выше, чем дрожжей, и выше совместной протеолитической активности микрофлоры закваски и молокосвертывающих энзимов [888]. Они образуют по крайней мере четыре протеиназы [312, 607]. Главной является чувствительная к ЭДТА сериновая протеиназа с оптимальным pH 9,0, достаточно активная при pH 6,0–6,5, характерном для поверхности слизневых сыров (рис. 8.2). Более поздние исследования выявили пять модификаций сериновой протеиназы *Br. linens*, отличающихся молекулярной массой и протеолитической активностью [415]. Протеолитическая активность внеклеточных энзимов проявляется с самого начала размножения *Br. linens*.

Br. linens образует 18 внеклеточных и внутриклеточных пептидаз, три из которых, гидролизующие большое количество дипептидов, обнаружены у всех исследованных штаммов [988].

В формировании вкуса и аромата сыров большую роль играют продукты катаболизма аминокислот, схема которого показана на рис. 8.3 [607]. *Br. linens* обладает очень высокой способностью катаболизировать аминокислоты вплоть до образования соответствующих спиртов, в т. ч. 3-метил-1-бутанола из лейцина, фенилэтанола из фенилаланина, 3-метилтиопропанола из метионина [426, 607]. Этот вид декарбоксилирует лизин, лейцин, глутаминовую кислоту [426]. Оптимальные pH такой активности находятся в пределах 5–7, оптимальная температура –

30° С. В катаболизме аминокислот принимают участие и другие компоненты сырной слизи: дрожжи, *Arthrobacter*.

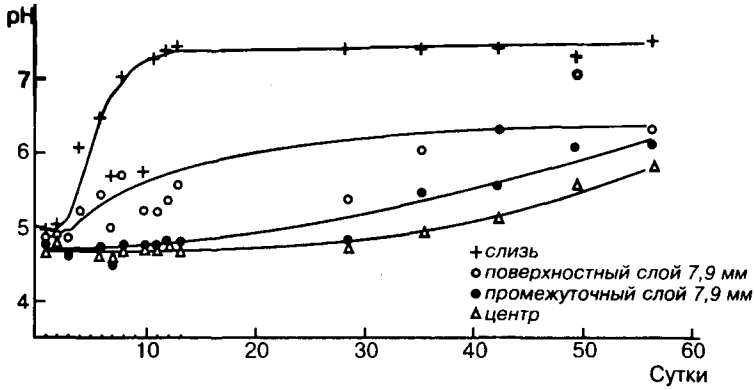


Рис. 8.2. *Изменение pH в Лимбургском сыре* [888]

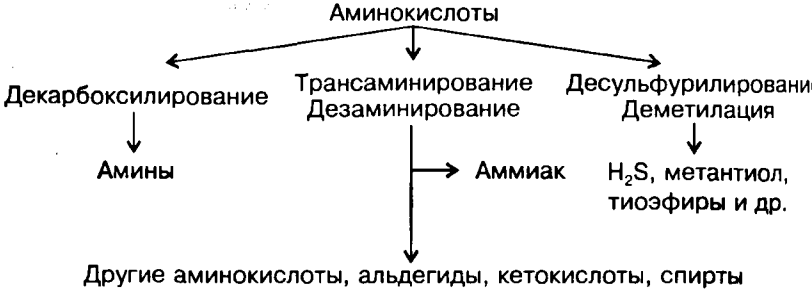


Рис. 8.3. *Схема катаболизма аминокислот в сырах* [607]

В формировании вкуса и аромата сыров принимают участие летучие серосодержащие соединения, придавая сырам характерный аромат, получивший название «чесночный». *Br. linens* образует из l-метионина метантиол, который способствует формированию специфического вкуса слизневых сыров [607, 888]. По-видимому, роль его состоит в том, что он является предшественником тиоэфиров, которые обладают сырным ароматом [670]. *Br. linens* также образует в сырах S-метилтиоацетат [200].

Br. linens обладает липолитической активностью [888]. У него обнаружены связанные с клеточной стенкой глицеролгидролаза, липаза и карбоксилэстераза [989]. Оптимальные pH (7,6) и температура (35° С) для действия этих энзимов выходят за пределы, характерные для созревания слизневых сыров, но липолитическая активность *B. linens* в сырах остается достаточно высокой.

Дрожжи также обладают протеолитической активностью. Эндопептидазы дрожжей *Debaryomyces* и *Trichosporon*, выделенных из поверхно-

стной слизи сыра Трапист, расщепляют казеин (оптимальный pH 5,8) и образованные *Br. linens* пептиды [670, 1059]. Количество свободных аминокислот в поверхностных слоях сыра Трапист в присутствии дрожжей и *Br. linens* было намного выше, чем при наличии только последнего вида.

Протеолитической и высокой аминопептидазной и, особенно, липолитической активностью обладают микрококки, выделяемые из сырной слизи [644]. Культивирование одного из штаммов *M. caseolyticus* в обезжиренном молоке в течение 10 сут при 30° С сопровождалось переходом до 90% белков молока в растворимое состояние; аналогичное культивирование штамма этого вида в цельном молоке вызвало переход 12% триацилглицеридов в моно-1,2-диацилглицериды и свободные, в т. ч. летучие, жирные кислоты [1471]. Для протеолитической активности микрококков оптимальными были pH 5,5 и температура 22° С [745]. Микрококки высвобождают большое количество метионина, который, как показано выше, является предшественником многих веществ, участвующих в формировании аромата сыра.

Lubert & Frazier считают, что микрококки сырной слизи являются необходимым фактором формирования типичного для слизневых сыров вкуса и аромата [662]. Сыр Брик, инокулированный только *Br. linens* или *Br. linens* и дрожжами, не приобретал во время созревания характерного вкуса и аромата. Свойственные ему показатели получены при использовании дрожжей совместно со смесью указанных выше видов микрококков. При высоких посевных дозах микрококков в сырах может появиться горечь и снизиться выход сыра. Выявление роли микрококков в производстве слизневых сыров, однако, требует дополнительных исследований.

Продолжительное созревание сыров с участием поверхностной микрофлоры приводит к появлению пороков вкуса и аромата. Обычно сыры созревают с поверхностной слизью до 1 мес, редко – до 2-х мес, после чего слизь удаляют и сыр парафинируют или упаковывают в пленку, т. е. переходят с аэробного на анаэробный метод созревания. Степень выраженности специфического вкуса и аромата сыров зависит от продолжительности их созревания с сырной слизью. К сырам с умеренно выраженным специфическим вкусом относятся Бель Пэзе (И), Монтери (США); со средне выраженным – Мюнстер (Г), Сен Полен (Фр); сыр Брик (США) имеет вкус и аромат от средне до сильно выраженного, ярко выраженный вкус и аромат имеют сыры Люмбургский (Бел) и Лидеркранц (США) [391]. Отечественный сыр Пикантный обладает умеренно выраженным вкусом и ароматом слизневых сыров. Следует отметить, что круг любителей слизневых сыров с сильно выраженным вкусом ограничен.

8.3. Грибные (плесневые) сыры

8.3.1. Микрофлора плесневых сыров

Сыры, вырабатываемые с помощью плесневых грибов, составляют небольшой процент от общего производства сыров, но благодаря спе-

цифическому, хорошо выраженному вкусу и аромату, нежной консистенции они становятся все более популярными. Они подразделяются на сыры с поверхностным ростом плесневых грибов и сыры с развитием плесневых грибов по всей массе (интерьеру). Из плесневых грибов в сырах первого класса главную роль играет *Penicillium camemberti*, в сырах второго класса – *Penicillium roqueforti* [391, 1539, 1749].

Penicillium camemberti

Применяемые в сыроделии виды плесневых грибов подробно описаны французскими учеными [1749]. Ранее выделяли два вида этого микроорганизма: *P. caseicolum* (старое название *P. candidum*), всегда имеющий мицелий белого цвета, и *P. camemberti* (старое название *P. album* – белая плесень), мицелий которого сначала белый, а на 10–14 сут приобретает бледную серо-зеленую окраску. *P. album* образует пушистый мицелий. *P. caseicolum* образует мицелий трех видов: плотный, с короткими, тесно перевитыми нитями; с длинными, высокими, свободно расположенными нитями и типа «невшатель» (neufchatel), очень быстро образующийся толстый, бело-желтый мицелий. Последний вариант обладает самой высокой протеолитической и липолитической активностью. В настоящее время *P. caseicolum* рассматривают как белый мутант *P. camemberti*. Местом обитания *P. camemberti* является поверхность некоторых сыров и помещения вырабатывающих эти сыры заводов, особенно камеры для созревания и солильные бассейны. По сравнению с другими видами пенициллов растет медленно: 25–35 мм на сусло-агаре за две недели при 25° С, причем белый мутант растет более медленно. Время до появления светло-зеленой окраски мицелия может варьировать в широких пределах (от 4 до 14 сут при 22° С).

Предельная концентрация соли для роста выше 20%, скорость роста падает при увеличении содержания соли больше 10%; 1–2% соли стимулирует рост на твердой среде.

Большинство штаммов хорошо растет при pH 3,5–6,5, но лишь некоторые, полученные в результате селекции, растут при щелочном pH [391]. По другим данным, нормальный рост наблюдается при pH 3,0–9,5, оптимальный pH для образования конидий 4,5, для роста мицелия 7,0 [591]. *P. camemberti* образует по крайней мере две протеиназы: кислую (расщепляет α_{s1}- и β-казеины) и нейтральную (действует на β-казеин), две внеклеточные карбоксипептидазы и аминопептидазу с относительно высоким оптимальным pH [607].

Суспензию спор *P. camemberti* наносят на поверхность сыров с помощью ватного тампона или пульверизатора, а также распыляют в камерах для созревания [1539]. Физико-химические условия на поверхности сыров неблагоприятны для прорастания спор. Для ускорения развития *P. camemberti*, французские ученые предложили обсеменять поверхность сыров не спорами, а мицелием, который выращивают на сывороточной среде при периодическом перемешивании в течение 1–3 сут

[1620]. Это на 30% сокращает период между инокулированием сыра и появлением видимого роста плесени на поверхности головки, а также повышает качество сыра.

На поверхности сыров типа Камамбер часто вырастает *Mucor*, развитие которого вызывает пороки продукта [1727]. Между этим плесневым грибом и *P. camemberti* существуют отличия, которые можно использовать для регулирования их роста: рост *Mucor* существенно ингибируется при $A_в$ меньше 0,92, рост *P. camemberti* при $A_в$ меньше 0,86; обе плесени имеют оптимальную температуру для роста 20–26° С, но *P. camemberti* быстрее растет при 12–16° С; *Mucor* имеет узкий диапазон pH для развития (около 5,0), *P. camemberti* растет в широком диапазоне pH. В связи с этим, нужно строго соблюдать технологию выработки сыра [580]. При значительном обсеменении свежего сыра *Mucor* необходимо прервать его цикл спорообразования и ускорить рост микрофлоры закваски. Особенно опасно загрязнение этим грибком сыра Камамбер перед посолкой и в первые 12–24 ч после посолки. *P. camemberti* ингибирует рост токсинообразующих плесеней [1071].

Penicillium roqueforti

В отличие от *P. camemberti*, *P. roqueforti* широко распространен в природе. Он не имеет ничего общего с *P. glaucum*, с которым его отождествляли ранее в литературе [1748]. Близок к нему *P. verrucosum var. cyclopium*, который иногда загрязняет культуры плесневых грибов для сыроделия, но *P. roqueforti* не имеет запаха, который напоминает запах сырой земли; иногда его называют «запах дикой плесени». Кроме этого, они отличаются морфологическими и культуральными свойствами, отношением к кислороду и CO_2, скоростью роста. На среде с 63 г/л ацетата натрия растет только *P. cyclopium* [1126]. Развитие *P. cyclopium* в сыре ведет к появлению горького вкуса и сопровождается образованием токсинов.

Оптимальная температура для *P. roqueforti* 35–40° С, но он растет хорошо и при низких температурах. При 7° С все штаммы, кроме одного, дали достаточно быстрый рост [277]. Растет при pH от 3 до 10,5, но при 4,0 лучше, чем при 6,0. Рост не прекращается даже в присутствии 5% молочной кислоты.

Концентрация соли 6–8% тормозит рост некоторых штаммов, хотя предельная концентрация соли больше 20%. Низкие концентрации соли (1–3%) стимулируют рост. Оптимальная концентрация соли 1–3% [367].

P. roqueforti образует внеклеточные кислую и нейтральную протеиназы, расщепляющие α_{s1}- и β-казеины [50].

Очень ценной для производства сыров особенностью этого вида является способность расти при низком парциальном давлении кислорода. Он растет в среде с 5% кислорода; рост его стимулируется CO_2 [1126]. Однако эта особенность делает его наиболее опасным возбудителем плесневения других сыров, в которых рост плесневых грибов вызывает пороки.

Распространенным пороком сыров с развитием плесневых грибов по всему интерьеру является горечь, обусловленная образованием горьких пептидов из казеина. *P. roqueforti* в зависимости от штамма расщепляет горькие пептиды, образуемые в сыре при совместном действии молокосвертывающих энзимов и протеиназ бактерий, или содействует их образованию [1738]. Штаммы, способные расщеплять горькие пептиды, можно обнаружить путем их культивирования в обезжиренном молоке с протеазой «Мезентерин ГР» в течение 30 сут. Мезентерин в течение 4 сут, предшествующих внесению в среду испытываемого штамма, образует в среде горькие пептиды, которые «негорькие» штаммы разрушают при последующей инкубации. Результаты этой пробы коррелируют с отсутствием горечи в сырах, выработанных с применением отобранных штаммов плесневого гриба.

Сухие препараты *P. roqueforti* готовят централизованно, используя хлеб в качестве основы среды для накопления его биомассы. Вносят их из расчета 3–4 г/100 кг молока.

Другие виды плесневых грибов

Кроме описанных выше в некоторых странах в сыроделии используют другие виды плесневых грибов [391]. Во Франции вырабатывают полутвердые сыры Сен Нектэр и Томе де Савойе, поверхность которых покрыта газоном из смеси плесневых грибов родов *Penicillium*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Epicoccum* и *Sporotrichum*. В Италии вырабатывают сыр Талледжио с поверхностным ростом *Penicillium* и *Mucor*, сыр Робиола с *Geotrichum*. В Норвегии вырабатывают термокислотным свертыванием из обезжиренного молока сыр Гамелост с использованием *Mucor* на поверхности и в интерьере сыра. При его выработке молоко сквашивают и нагревают при 65° С, осажденный белок формуют и выдерживают около 2 ч в кипящей сыворотке. На следующий день его опрыскивают суспензией плесени или опрыскивают и прокалывают головки обсемененными плесенью иглами. Сыр имеет коричневую окраску поверхности и коричнево-желтую окраску интерьера.

Сыры, вырабатываемые с отличными от *P. camemberti* и *P. roqueforti* видами плесневых сыров, имеют региональное значение.

Молочнокислые бактерии

Для производства большинства грибных сыров используют обычные лактококковые закваски с лейконостоками (разд. 8.1). Лейконостоки придают массе сыра пористость, что способствует более равномерному и интенсивному росту плесневых грибов. В Италии для производства сыра Талледжио, Горгонзола применяют закваски болгарской палочки и термофильного стрептококка или молоко, свернувшееся при 40–44° С (для выработки сыров Италико и Крешенца) [84]. В естественных заквасках доминирует термофильный стрептококк. Болгарская палочка и термофильный стрептококк стимулируют протеолитическую активность *P. roqueforti* путем образования низкомолекулярных пепти-

дов [923]. Состав заквасок оказывает сильное влияние на качество сыра Камамбер [1470]. В совместных культурах с молочным лактококком и *Lbc. casei* рост пенициллов замедлялся [1126]. Японские исследователи отмечают важную роль лактококков в трансформации продуктов протеолиза плесневыми грибами во вкусовые и ароматические соединения Камамбера и считают необходимым отбор штаммов лактококков в закваски для этих сыров [1427].

8.3.2. Изменение микрофлоры сыров во время созревания

В сырах с поверхностным развитием плесени на всем протяжении созревания во внутренних слоях преобладают лактококки и лейконостоки. Максимальное их количество ($2{,}5 \cdot 10^{10}$ $г^{-1}$) в сыре Камамбер отмечалось примерно через 3 ч после прессования [1126]. Вплоть до посолки в сырах доминировал сливочный лактококк, который после этого начал быстро вымирать. Минимальным содержание лактобактерий было в сырах 10-суточного возраста. В 20-суточных сырах был второй максимум, который был ниже первого примерно на полтора порядка. Доминирующей микрофлорой в глубинных слоях с 5- до 27-суточного возраста были лейконостоки. На последнем этапе до конца созревания во внутренних слоях преобладали молочный лактококк и мезофильные гомоферментативные молочнокислые палочки. В 46-суточном возрасте общее количество микрофлоры во внутренних слоях было на 4 порядка ниже, чем в период первого максимума. Состав молочнокислой микрофлоры на поверхности был такой же, как внутри сыра.

Интересно наличие второго максимума в развитии микрофлоры. Скорее всего, прекращение размножения лактобактерий в сыре Камамбер во время прессования связано с подавлением роста сливочного лактококка низким pH. Рост лейконостоков и молочного лактококка после 10-суточного возраста обусловлен повышением pH. В начальный период эти виды не обнаруживались, очевидно, из-за низкого содержания в сыре.

Сразу после выработки на поверхности сыров начинается интенсивное размножение дрожжей *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Debaryomyces hanseni*, *Saccharomyces italicus*, *Torulopsis sphaerica*, которые образуют пленку толщиной около 200 мкм [936, 937]. Иногда параллельно с дрожжами растут плесени *G. candidum*, но это случается только при слабой посолке сыра. Спустя 6–7 дней начинается видимый рост *P. camemberti*, и поверхность сыра покрывается сплошным белым газоном.

P. camemberti при развитии на поверхности сыров получает энергию окислением лактатов, что вызывает быстрое повышение pH в поверхностных слоях сыра (рис. 8.4) [644]. Рост плесени продолжается в течение 15–20 сут, после чего на поверхности сыров начинает активно размножаться кислоточувствительная, устойчивая к соли микрофлора, в частности микрококки и *Br. linens*. Рост плесени затухает в связи с исчерпанием лактатов в поверхностных слоях.

Количество микрококков, *Br. linens*, а также БГКП достигает значительных величин в сырах из *сырого* молока, в сырах из *пастеризованного* молока численность всех групп микроорганизмов, кроме *P. camemberti* на поверхности и лактококков в интерьере, резко снижается, а вкус сыра становится менее острым и выраженным [391].

Высокий pH на поверхности грибных сыров типа Камамбер в зрелом возрасте делает опасным его загрязнение посторонней микрофлорой. Проверка 100 образцов этого сыра, взятых из торговой сети в ФРГ, показала, что на поверхности сыра среднее содержание равнялось: энтерококков – $4{,}6 \cdot 10^5$, колиформ – $3{,}5 \cdot 10^8$ в 1 г [1699]. Внутри сыра содержание этих бактерий было ниже примерно в 4–10 раз. Сходные данные получены в Нидерландах, 4% промышленных сыров Бри и 15% сыров Камамбер содержали более 10^5 КОЕ/г *E. coli* [777].

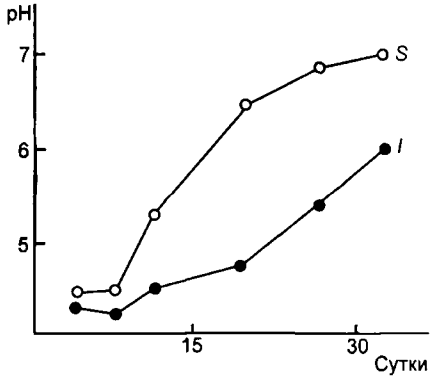


Рис. 8.4. *Изменение pH сыра Камамбер во время созревания (S – поверхность; I – внутренние слои)* [391]

Изучена судьба *Listeria monocytogenes* – наиболее опасного возбудителя пищевых отравлений, специально внесенного в молоко для выработки Камамбера после пастеризации в количестве 500 КОЕ/мл [916]. В первые сутки количество листерий в сырах возросло в 5–10 раз. В течение последующих 18 сут количество жизнеспособных клеток у трех штаммов листерий снизилось до 10–100 КОЕ/г, у одного штамма не изменилось. После 18 сут все штаммы начали размножаться и к 65-суточному возрасту их биомасса достигла $1 \cdot 10^6$–$5 \cdot 10^7$ КОЕ/г. Рост шел параллельно с повышением pH. Сыры все время находились при 6° С. *P. camemberti* стимулировал рост листерий. В сырах без плесени в центре головки листерии не размножались при pH 4,6–5,5, но размножались при более высоком pH. В опытах других исследователей *Listeria monocytogenes*, попавшая на поверхность мягких сыров во время созревания, размножается так же, как при попадании в молоко [1124]. Все это свидетельствует о необходимости строжайшего соблюдения санитарных правил и режима пастеризации молока при выработке этих сыров.

Изменение бактериальной микрофлоры во время выработки и созревания сыра Рокфор из сырого овечьего молока показано на рис. 8.5 (1 – поверхность, 2 – глубинные слои) [238, 1371]. В молоке перед внесением сычужного энзима содержалось $3{,}5 \cdot 10^8$ клеток бактерий/мл, в т. ч. БГКП и дрожжей 10^5 и 10^6 клеток/г соответственно.

Во время выработки (до формования) количество бактерий увеличилось за счет микрофлоры закваски в 1,6 раза, количество БГКП и дрожжей не изменилось. В сырах до посолки общее количество бактерий на поверхности изменилось незначительно, содержание дрожжей увеличилось, содержание микрококков и стафилококков уменьшилось примерно на два порядка, содержание БГКП снизилось на 4,5 порядка, биомасса *Lbc. casei* и *Lbc. plantarum* достигла максимума. Тенденции изменения содержания микрофлоры во внутренних слоях такие же, но количественно они гораздо ниже. Стремительное снижение количества БГКП, микрококков и стафилококков можно объяснить низким pH, памятуя при этом, что чувствительность бактерий к pH, устанавливаемому наличием в среде органических кислот, намного выше, чем при использовании неорганических кислот [24]. Закономерно и размножение дрожжей, обладающих высокой устойчивостью к pH и способных хорошо расти при температурах созревания [888].

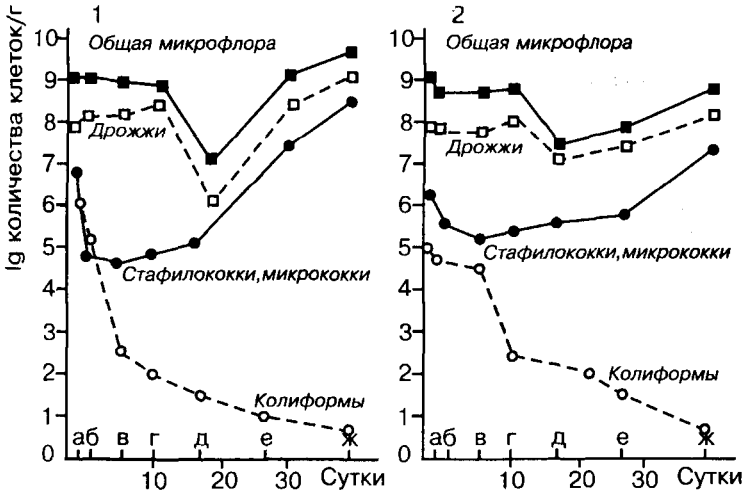


Рис. 8.5. *Развитие микрофлоры сыра Рокфор: а – через 21 ч после внесения сычужного препарата; б – в теплой камере (18° С); в – в камере созревания (10° С); г – перед посолкой; д – после посолки; е – на 11-е сутки созревания (8–9° С); ж – на 21 сутки созревания (8–9° С)*

Во время посолки количество дрожжей на поверхности уменьшилось больше чем на два порядка, а внутри сыра практически не изменилось. Снизилось и общее число бактерий. Внутри сыра содержание дрожжей снизилось незначительно, что понятно, так как соль достигает центральных слоев сыра не ранее чем через 11 сут после посолки [1749]. Однако, только посолкой снижение содержания дрожжей в этот период объяснить

нельзя. После посолки количество дрожжей начало увеличиваться внутри и особенно быстро на поверхности сыра. Но увеличиваться в количестве начали не те дрожжи, которые размножались до посолки. Дрожжи, размножавшиеся на поверхности сыра до посолки, утилизировали молочную кислоту; дрожжи, размножавшиеся после посолки, ее не использовали [1371]. По-видимому, первые погибли во время посолки, потому что на поверхности сыра резко снизилось содержание молочной кислоты.

После посолки начало быстро расти содержание солеустойчивых бактерий. В этой группе тоже произошли качественные изменения: до посолки в ней преобладали стафилококки, после посолки их перестали обнаруживать на поверхности сыра, а внутри сыра они исчезли к 37-суточному возрасту, когда сыр упаковали в фольгу. Количество микрококков в сырах этого возраста на поверхности превышало 10^9, внутри сыра было примерно равно $5 \cdot 10^7$ г$^{-1}$. Физико-химические условия в сыре более благоприятны для роста стафилококков, которые являются факультативными анаэробами, чем микрококков – облигатных аэробов. Подавление же их роста, так же как роста БГКП, является результатом антагонистического действия плесневых грибов – основной микрофлоры сыров этой группы. Получены штаммы пенициллов, обладающие сильной антагонистической активностью по отношению к стафилококкам, сальмонеллам, кишечной палочке и другим микроорганизмам, способным причинить вред здоровью потребителя при размножении в сырах выше определенного уровня [660]. Следует отметить, что в литературе нет сообщений о стафилококковых интоксикациях сыром Рокфор и сырами подобного типа. В «голубом» сыре, выработанном из молока, инокулированного энтеротоксигенными штаммами стафилококков, энтеротоксины не были обнаружены при содержании $50 \cdot 10^6$ КОЕ/г стафилококков, хотя в других видах сыров они обнаруживались при более низких уровнях развития стафилококков [64].

В сырах с развитием плесени по всему интерьеру, выработанных из пастеризованного молока, во время созревания доминируют микроорганизмы закваски, в числе которых обязательно присутствуют газообразующие молочнокислые бактерии и *P. roqueforti*, спорообразование которого становится видимым через 2–3 недели после выработки сыра. Эта микрофлора ответственна за формирование специфических для сыров этого класса органолептических показателей. В сырах из сырого молока значительное место в микрофлоре занимают дрожжи, микрококки, а также обнаруживаются стафилококки, отличающиеся высокой устойчивостью к соли, и БГКП [391].

8.3.3. Созревание грибных сыров

Протеолиз

Одним из основных процессов, лежащих в основе созревания грибных сыров, является протеолиз. Содержание растворимого при pH 4,6 азо-

та составляет более 50% в сыре Рокфор (Devoyod et al., 1968) и около 65% в Данаблю [391, 433]. Растворимый при pH 4,6 азот содержит большое количество низкомолекулярных пептидов; в эту фракцию входит также небелковый азот (растворимый в 12% ТХУ). Небелковый азот составляет в Данаблю около 30% [367], свободные аминокислоты – около 10% от общего содержания азота (Ismail & Hanson, 1972) [391]. В Камамбере из сырого молока содержание растворимого азота равнялось 35% в поверхностных и 20% во внутренних слоях [645]. В результате интенсивного дезаминирования аминокислот 7–9% общего азота в нем находилось в виде аммиака.

Чем обширнее и глубже протеолиз, тем нежнее консистенция сыра. Зрелый Камамбер имеет неоднородную консистенцию: в наружной части очень мягкую, вплоть до полужидкой, в центральной – значительно более твердую [1476]. Если в 7-суточном возрасте твердость сыра составляла от 7 до 14 г/см^2, то в 28-суточном она равнялась на поверхности 2, в центре – 11 г/см^2. Следовательно, созревание Камамбера идет с поверхности.

Протеолиз в сырах идет под действием природных протеиназ, молокосвертывающих энзимов и энзимов, образуемых микрофлорой сыра. При выработке сыров из пастеризованного молока определенное количество плазмина сохраняет активность. Оптимальный pH для плазмина равен 8,0, поэтому активность плазмина в грибных сырах из-за более высокого pH будет выше, чем в других сычужных сырах. И действительно, в конце созревания в этих сырах несколько повышается содержание γ-казеина – продукта гидролиза β-казеина плазмином [1103]. Однако, протеолиз в грибных сырах из пастеризованного молока под действием природных протеиназ слишком мал, чтобы оказать заметное влияние на созревание сыров.

Химозин принимает участие в протеолизе в грибных сырах, о чем свидетельствует обнаружение в нем пептидов, характерных для действия химозина на α-казеин [1103]. Оптимальный pH для действия химозина на казеин равен 5,0 [779]. Из рис. 8.4 видно, что при созревании pH сыра Камамбер только непродолжительное время находится в зоне, благоприятной для действия химозина на казеин. В сырах с развитием плесени во всей массе (Данаблю, Блю д'Овернь, Голубой) pH уже в течение первых 30 сут созревания повышается до 5,5–6,0 [391]. Таким образом, протеолитическая активность химозина по мере созревания грибных сыров должна затухать. В еще большей степени это относится к свиному пепсину (разд. 2.4.2). В действительности, после повышения pH за пределы 7,0 степень зрелости сыра Камамбер, оцениваемая по накоплению продуктов протеолиза, на какое-то время перестала увеличиваться, затем снова начала возрастать (рис. 8.6) [1426]. Последнее, по-видимому, вызвано начавшимся высвобождением внутриклеточных протеиназ плесеней. Общий протеолиз в грибных сырах намного выше, чем в сырах типа Гауда, хотя pH в сыре Гауда более благоприятен для протеолитического действия молокосвертывающих энзимов и протеиназ мезофильных лак-

тобактерий. В твердых сырах по сравнению с грибными протеолиз более активно идет в центральных слоях, накапливается небольшое количество свободных аминокислот, ограничен катаболизм аминокислот, не образуется аммиак. Все это говорит о том, что основную роль в протеолизе грибных сыров играет специфическая для них микрофлора.

Исследования сыра, выработанного в условиях, позволяющих контролировать состав микрофлоры, показали, что в сгустке, в котором микрофлора была представлена только *P. roqueforti* или *P. camemberti*, после 40 дней созревания содержание растворимого при pH 4,6, небелкового и растворимого в фосфорно-вольфрамовой кислоте азота равнялось соответственно 50, 30 и 10% общего содержания азота [391]. Это выше, чем в сгустке, в котором протеолитическими факторами были только плазмин и химозин.

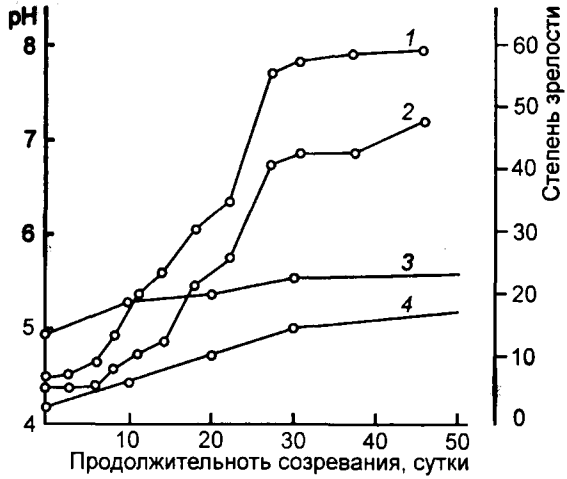


Рис. 8.6. *Изменение pH и степень зрелости сыров Камамбер и Гауда: 1 – pH сыра Камамбер; 2 – степень зрелости сыра Камамбер; 3 – pH сыра Гауда; 4 – степень зрелости сыра Гауда*

Оба вида пенициллов обладали внутриклеточными и внеклеточными протеинзами, оба синтезировали металлопротеиназу и аспартатпротеиназу, одну или несколько щелочных карбоксипептидаз, некоторые штаммы продуцировали щелочную протеиназу. По протеолитической активности штаммы *P. roqueforti* сильно отличались друг от друга, вариабельность протеолитической активности штаммов *P. camemberti* была невысокой [1480].

Оптимальный pH для действия на казеин кислой протеиназы *P. roqueforti* и *P. camemberti*, равен 5,5; кислая протеиназа *P. roqueforti* сохраняла активность при pH 3,5–6,0, *P. camemberti*, – при pH 3,5–5,5. Оба энзима атаковали α- и β-казеины. В отличие от химозина, который в сыре

атакует только α-казеин, *P. caseicolum* расщепляет æ-казеин с помощью кислой протеиназы с оптимальным pH 3,5 [1476].

Внутриклеточные протеиназы пенициллов исследованы недостаточно. Оптимальный pH для них лежит в диапазоне 5,5–6,0 или 5,5–6,5.

В асептически приготовленном сгустке, не содержащем микрофлоры, кислая протеиназа *P. roqueforti* и металлопротеиназы *P. camemberti* давали те же электрофореграммы, какие получали при исследовании сыров, что доказывает ведущую роль плесневых грибов в протеолизе в этих сырах [392]. В асептическом сгустке кислая протеиназа *P. roqueforti* вместе с нейтральной протеиназой *P. camemberti*, вызывали большое увеличение содержания растворимого при pH 4,6 азота и небольшое – количества свободных аминокислот. Неочищенные гомогенизаты молочного лактококка, наоборот, незначительно увеличивают содержание растворимого при pH 4,6 азота и существенно повышают содержание свободных аминокислот [392].

В Камамбере действие протеиназ *P. camemberti* начинает проявляться на 6–7 день созревания, почти сразу после начала видимого роста плесени на поверхности сыра. Их максимальная активность наблюдается в сырах 15-суточного возраста, после чего она начинает медленно снижаться. Действие энзимов проявляется в поверхностных слоях, но образующиеся в результате пептиды медленно диффундируют вглубь сыра. Внутриклеточная протеиназа, по сравнению с внеклеточной, оказывает незначительное влияние на протеолиз. Соль снижает активность протеолитических энзимов *P. camemberti*: при 4% соли степень протеолиза снижается до 25% по сравнению с 40% в несоленом сыре [546].

Благодаря синтезу нескольких экзопептидаз с различными оптимальными значениями pH (от 3 до 8) *P. roqueforti* образует широкий спектр свободных аминокислот. *P. camemberti* также образует большое количество свободных аминокислот, в том числе гидрофобных, что снижает горечь гидролизатов казеина в грибных сырах [391].

Определенная пептидазная активность характерна для лактококков, причем в грибных сырах, в которых на определенных стадиях созревания pH близок к нейтральному значению, оптимальному для пептидаз лактококков, количество свободных аминокислот, образуемых лактококками, выше, чем в сырах с анаэробным созреванием [611].

Протеолитической активностью обладают дрожжи, играющие важную роль в поверхностной микрофлоре грибных сыров. Оптимальный pH для их протеолитической активности равен 6,0, при pH 4 и 7 она снижалась на 50% [1763]. По интенсивности протеолиза дрожжи близки к *P. caseicolum*.

Липолиз

Масштабы липолиза в грибных сырах намного больше, чем в твердых: в твердых сырах липолизу подвержено не более 2% триглицеридов, в грибных – 5–20% (табл. 8.5) [66]. При этом интенсивный липолиз

может не сопровождаться появлением прогорклого вкуса, что обусловлено нейтрализацией жирных кислот при повышении pH [391]. В Рокфоре количество свободных кислот равно 8–10% от общего содержания жирных кислот. В Голубом сыре содержание жирных кислот в поверхностных слоях бывает ниже, чем в глубинных, что вызвано ингибированием липолиза на поверхности высокой концентрацией соли [367]. Однако, обычно степень липолиза снижается в направлении к центру головки сыра. Большинство жирных кислот высвобождается в сырах в результате липолиза. Только свободные жирные кислоты с короткой цепочкой образуются в результате сбраживания углеводов или катаболизма аминокислот: они составляют около 5% от общего содержания свободных жирных кислот в сыре.

8.5. Кислотность жира в различных видах сыров

Вид сыра	мэкв кислот /100 г сыра
Гауда	5,64–6,64
Камамбер	8,54–36,0
Данаблю	45,19–50,27
Рокфор	15,39–39,71

Основной источник липолитических энзимов в грибных сырах – *P. roqueforti* и *P. camemberti*; природные липазы молока обладают низкой активностью. Может быть источником липаз *G. candidum*, в частности, липаза этого вида ответственна за высокое содержание олеиновой кислоты в Камамбере.

P. camemberti образует одну липазу с оптимальными pH 9,0 и температурой 35° С. При pH 6,0 она сохраняет 50% своей активности и остается достаточно активной при 0–20° С [601]. По количеству образуемой липазы штаммы *P. camemberti* могут различаться в 10 раз [1472].

P. roqueforti образует две липазы, одна из них активна в кислой, вторая – в щелочной среде [391]. Максимальная активность «кислой» липазы наблюдалась при pH 6,0–6,5, активность «щелочной» липазы при pH 6,0 составляла 20% от максимальной. Штаммы этого вида сильно различаются по липолитической активности. Липолиз в грибных сырах – один из основных источников ароматических веществ или их предшественников.

Ферментация молочной кислоты

Для выработки сыров типа Камамбер используют только зрелое молоко с pH 6,4 (22° Т), минимальный pH сыра равен 4,6; pH зрелого сыра лежит в интервале от 6,0 (внутренние слои) до 7,0 (поверхностные слои). Изменение pH во время созревания в грибных сырах обусловлено в первый период сбраживанием лактозы лактобактериями до кислот, а на втором этапе утилизацией кислот дрожжами и плесневыми грибами. Выделяющийся при сбраживании лактозы и молочной кислоты CO_2 образует в сырной массе пустоты, облегчающие распространение пле-

сени. В начальный период во внутренних слоях Камамбера содержалось в сухом веществе 3,9% L(+)-лактата, на поверхности – 2,9%, в зрелом сыре содержалось меньше 0,02% лактатов. В сырах типа Рокфор pH повышается не столь значительно (до 6,2–6,5).

Повышение pH во время созревания грибных сыров создает более благоприятные условия для действия протеолитических и липолитических энзимов, способствует развитию микрококков и бревибактерий на поверхности сыров и тем самым ускоряет формирование специфических для этих сыров органолептических показателей. Это важнейший процесс в созревании грибных сыров. В то же время в результате нейтрализации в сыре создаются условия для развития нежелательной микрофлоры. Этот недостаток частично компенсируется антибиотической активностью плесневых грибов.

Формирование вкуса и аромата сыров с развитием плесневых грибов по всей массе продукта

В формировании вкуса и аромата сыров с развитием плесневых грибов по всему интерьеру ключевую роль играют метилкетоны: 2-гептанон, 2-нонанон, в первую очередь, и 2-пентанон, 2-пропанон, 2-ундеканон, 2-тридеканон [779]. Содержание метилкетонов увеличивается в сырах до 70-суточного возраста, затем начинает снижаться [217]. Метилкетоны образуются в результате β-окисления свободных жирных кислот плесневым грибом *P. roqueforti*. Оптимальный pH для окисления жирных кислот мицелием плесени равен 5,0–7,0. Количество образуемых в сыре метилкетонов коррелирует с количеством высвобождающихся в результате липолиза жирных кислот. Сыры с недостаточным липолизом имеют плохо выраженные специфические органолептические показатели. Слишком интенсивная посолка тормозит развитие *P. roqueforti*, снижает скорость липолиза и уменьшает концентрацию метилкетонов в сыре.

Летучая фракция сыров этого типа включает вторичные спирты (2-пентанол, 3-гептанол и 2-нонанол), образуемые при восстановлении метилкетонов *P. roqueforti* [11]. Концентрация их ниже, чем концентрация метилкетонов. Кроме метилкетонов и вторичных спиртов в летучей фракции «голубых» сыров присутствуют другие спирты, альдегиды, эфиры, амины, жирные кислоты, γ-лактоны.

На основе результатов исследований составных элементов аромата «голубых» сыров разработан состав и организовано производство специальных добавок для использования в приготовлении салатов и производстве плавленых сыров, имитирующих вкус «голубых» сыров [766, 1713]. Готовят эту добавку путем выращивания *P. roqueforti* в среде с высоким содержанием липидов.

Формирование вкуса и аромата сыров с поверхностной плесенью

Состав ароматических веществ сыров типа Камамбер очень сложен и включает первичные и вторичные спирты, метилкетоны, альдегиды, эфиры, фенолы, лактоны, серосодержащие соединения, анизолы, амины и др.

[391]. Группы этих соединений во многом совпадают с теми, которые обнаружены в «голубых» сырах, однако по составу индивидуальных компонентов имеются существенные отличия. В зависимости от штамма *P. camemberti* образовывал за 4 ч инкубации от 7,9 до 44,4 мкмоль метилкетонов на г мицелия [1473]. В формировании характерного для этих сыров грибного вкуса основную роль играет 1-октен-3-ол, однако избыточное содержание его приводит к образованию пороков (Adda et al., 1973) [391].

Серосодержащие соединения ответственны за образование характерного чесночного привкуса [391]. Они образуются в результате жизнедеятельности как *P. camemberti*, так и бревибактерий, в том числе *B. linens*, рост которых в какой-то степени всегда имеет место на поверхности этих сыров [607, 888].

Для формирования типичного для Камамбера вкуса необходимы высокие концентрации 2-фенилэтанола и более низкие концентрации 2-фенилэтилацетата и 2-фенилэтилпропионата (Jolly & Kosikowski, 1975) [391]. 2-Фенилэтанол придает сыру приятный запах подобный запаху роз, максимальная концентрация его отмечается в сыре недельного возраста. Вероятнее всего фенилэтанол образуется дрожжами из фенилаланина. Важным компонентом вкуса Камамбера является аммиак, образующийся при дезаминировании аминокислот поверхностной микрофлорой.

В формировании основного вкусового фона грибных сыров важная роль принадлежит свободным жирным кислотам, которые являются предшественниками многих ароматообразующих веществ.

Формирование консистенции грибных сыров

Сформованная сырная масса, твердая и крошливая вначале, становится мягкой и нежной по мере созревания грибных сыров. Эти изменения являются результатом протеолиза. В предыдущих разделах показано, что в сырах с поверхностным развитием плесневых грибов наиболее сильный протеолиз происходит на поверхности, а по направлению к центру головки степень протеолиза снижается. Тем не менее на поверхности сыров сохраняется тонкая, но достаточно прочная корочка. Это обусловлено тем, что в результате использования поверхностной микрофлорой молочной кислоты в поверхностных слоях повышается pH и создается градиент pH в головке сыра. В связи с этим Ca и P мигрируют из центра к поверхности, где образуют нерастворимый при нейтральном pH фосфат кальция. В корочке зрелого Камамбера содержится около 17 и 9 г/кг Ca и неорганического P, которые и придают ей определенную жесткость [375].

На размягчение консистенции влияют все факторы, расщепляющие белки, в том числе молокосвертывающие энзимы и протеиназы микрофлоры закваски, активность которых растет при повышении pH. Протеиназы плесневых грибов в сырах типа Камамбер медленно диффундируют в глубину сыра и не играют существенной роли в протеолизе в глубинных слоях [1479].

Сосредоточение 80% Ca и больше 55% неорганического P в корочке грибных сыров [391, 375] свидетельствует о полном выходе из параказеиновых мицелл мицеллярного фосфата кальция (гл. 2), что должно вызвать коренные изменения в структуре казеина: параказеиновые мицеллы, в которых мицеллярный фосфат кальция играет главную связующую роль, в этих условиях не могут быть стабильными, а мицеллы, характерные для кислотного сгустка, в котором нет мицеллярного фосфата кальция, вряд ли могут образоваться при pH грибных сыров и в присутствии достаточно высоких концентраций молокосвертывающих энзимов. Интересно, что в сгустке, из которого был удален химозин, консистенция в процессе созревания не размягчалась, оставаясь упругой и крошливой [780]. К сожалению, форма, в которой находятся белки молока в грибных сырах, пока не выявлена.

Управление созреванием

Биохимическая активность различных штаммов плесневых грибов варьирует в широких пределах. Качество «голубых» сыров, в связи с этим, в большой степени зависит от свойств используемого для их выработки штамма *P. roqueforti*. Выбор определяется не только свойствами штамма, но и видом вырабатываемого сыра. Для производства сыра Блю д'Оверн нужны, например, штаммы с высокой протеолитической и низкой липолитической активностью, сыра Фурм д'Амбер – штаммы с низкими протеолитической и липолитической активностями [391].

Существует тесная связь между микробиологическими и технологическими факторами при формировании органолептических показателей сыров [590]. Важное значение имеют температура созревания, pH, активность воды, содержание кислорода, освещение.

Во время созревания нужно следить за интенсивностью развития плесени: при недостаточном развитии специфические органолептические характеристики сыров будут слабо выражены, при излишнем развитии появляются пороки вкуса, аромата, консистенции. Интенсивность развития плесени в сырах типа Рокфор зависит от количества проколов в головке, содержания лейконостоков в закваске, своевременности удаления поверхностной слизи, которая может закрывать отверстия проколов. Степень и продолжительность посолки влияют на развитие *P. roqueforti*, микрококков и дрожжей, протеолитическую и липолитическую активность плесени.

Штаммы *P. camemberti* сильно различаются по липолитической активности и способности окислять жирные кислоты, но имеют небольшие отличия по протеолитической активности [923, 1480]. При выборе штамма этого вида нужно учитывать липолитическую активность, скорость роста, цвет, плотность, длину мицелия, от которых зависит внешний вид сыров.

Интенсивность посолки сыров с поверхностной плесенью должна быть такой, чтобы подавить рост *G. candidum* без угнетения роста *P. ca-*

memberti (концентрация соли в водной фазе должна быть выше 6, но ниже 10% (табл. 8.1)). Недосол, особенно в сочетании с повышенной влажностью, приводит к слишком быстрому росту *G. candidum* и замедлению роста *P. camemberti* и, в конечном счете, к появлению порока, называемого «жабья шкура» [391]. Недосол создает условия для роста *Mucor*, в результате которого изменяется внешний вид сыров; этот порок называют «кошачья шерсть». Для предотвращения порока используют быстрорастущие штаммы *P. camemberti*. Посолкой сыра можно ограничивать протеолиз в сыре [751].

Специфическим требованием к молоку в производстве сыров, созревающих с участием *P. camemberti*, является низкое содержание психротрофных бактерий, липазы которых могут усилить липолиз в сырах и вызвать появление прогорклого, нечистого вкуса.

Для предотвращения размножения нежелательных бактерий в грибных сырах необходимо ускорить снижение pH в сыре, желательно, до 4,5–4,6, чего можно достичь использованием зрелого молока, достаточно высоких доз закваски [598, 922]. При этом pH прекращается размножение бактерий, представляющих угрозу качеству сыра, а в процессе созревания большая часть их клеток гибнет. Некоторые из них, в частности *Hafnia alvei*, *Listeria monocytogenes*, могут в сырах размножаться после повышения pH (разд. 8.3.2) [751, 916]. Для предупреждения их развития сыры следует вырабатывать только из пастеризованного молока со строгим соблюдением гигиенических требований. Выработка сыра Камамбер в хороших гигиенических условиях снижает содержание колиформ на его поверхности до 10^2–10^4 КОЕ/г [1003].

Хорошие результаты по предотвращению роста *L. monocytogenes* дает включение в состав заквасок низинообразующих штаммов лактококков [673].

8.4. Заключение

Большинство сыров созревает в анаэробных условиях, для поддержания которых головки сыра покрывают сплавами или упаковывают в пленки, которые не пропускают кислород. Это делается для подавления роста на поверхности сыра аэробной микрофлоры, развитие которой вызывает многочисленные пороки сыра. В сырах с созреванием в аэробных условиях «дикая» аэробная микрофлора подавляется низким pH в начале созревания, высокой концентрацией соли и культурной аэробной микрофлорой, размножающейся во время созревания, рост которой придает сыру специфические органолептические показатели, высоко оцениваемые определенными контигентами потребителей. В качестве культурной микрофлоры применяют: естественно складывающееся сообщество микроорганизмов – сырную слизь, в состав которой входят *Brevibacterium linens*, дрожжи и микрококки; плесневые грибы *Penicillium camemberti* и *Penicillium roqueforti*. На поверхности слизне-

вых сыров вначале развиваются кислото- и солеустойчивые дрожжи, использующие в качестве источника энергии лактаты. Дрожжи создают условия для роста *B. linens* и микрококков, повышая pH сыра и образуя стимулирующие рост соединения. Грибные (плесневые) сыры вырабатывают с ростом плесневых грибов только на поверхности головки или по всей массе сыра. Во второй группе грибных сыров для создания аэробных условий в сырной массе в головках делают многочисленные проколы; для их выработки используют *P. roqueforti*, который растет при низком содержании O_2. Плесневые грибы также используют лактаты и повышают pH сыров. Сыры, созревающие с участием аэробной микрофлоры, характеризуются высоким протеолизом и липолизом, что обусловливает их острый специфический вкус и аромат. Высокие степени липолиза и протеолиза обусловлены образованием аэробной микрофлорой большого количества липаз и протеиназ и достаточно высоким уровнем pH, устанавливающимся в процессе утилизации лактатов.

Повышение pH этих сыров в процессе созревания снижает показатели их безопасности по сравнению с твердыми сырами.

ГЛАВА 9

ПОДГОТОВКА МОЛОКА

Молоко сразу после выхода из вымени непригодно для выработки сыров из-за наличия природных антибактериальных систем, которые подавляют или ингибируют рост необходимой микрофлоры во время выработки сыра. Кроме этого, в парном молоке недостаточно доступных для микрофлоры заквасок источников азота, в которых она нуждается в стартовый период развития, и слишком высокий окислительно-восстановительный потенциал, поскольку молоко во время дойки и перекачки насыщается воздухом.

После получения молоко нужно доставить до завода. Продолжительность хранения молока на молочных фермах до отправки на завод зависит от их размеров, так как для снижения расходов на транспортировку молоко нужно доставлять достаточно большими партиями. С крупных ферм или молокоприемных отделений молоко доставляется 1–2 раза в сутки, на мелких фермах для накопления достаточного для транспортировки количества молока требуется несколько суток. На заводах молоко, по крайней мере значительная его часть, резервируется для обеспечения непрерывной поточной работы оборудования. Во время хранения на фермах, транспортировки и резервирования молоко загрязняется микрофлорой, которая размножается и вызывает нежелательные изменения его состава и свойств.

Для подготовки молока как среды для развития необходимой для производства сыра микрофлоры и устранения нежелательных изменений состава и свойств молока во время хранения, транспортировки и резервирования проводят его первичную обработку.

9.1. Удаление механических загрязнений из молока

Наличие в молоке и сыре механических загрязнений оказывает защитное действие на микроорганизмы во время тепловой обработки, снижает показатели безопасности и недопустимо с точки зрения эстетики. Показатель механической загрязненности молока входит в число показателей сортности. Молоко обязательно фильтруют на ферме. При проведении фильтрации следует тщательно следить за чистотой фильтров, так как грязные фильтры могут стать существенным источником заражения молока микрофлорой.

На заводах молоко очищают сразу после приемки и во время тепловой обработки, используя центробежные молокоочистители. Во время пастеризации молокоочистители ставят на пути молока из секции регенерации в секцию пастеризации, тем самым создавая дополнительное давле-

ние в секции пастеризации, препятствующее загрязнению пастеризованного молока сырым в секции регенерации, что возможно при наличии микротрещин в пластинах или прокладках пастеризационной установки.

9.2. Хранение, резервирование

При резервировании (хранении) молока необходимо предотвратить:

- размножение вредной микрофлоры до опасного уровня;
- нежелательные для качества и выхода сыра изменения состава и свойств молока.

Для предотвращения размножения до опасных количеств микроорганизмов молоко охлаждают до 2–8° С и хранят при этой температуре. Хранение молока при низких температурах – необходимый этап в производстве сыров, хотя оно и сопровождается некоторым ухудшением физико-химических свойств молока. Наибольшую опасность для качества сыра при холодильном хранении молока представляет размножение психротрофных микроорганизмов. Они влияют на качество и выход сыра двумя путями: расщеплением белков и липидов молока с образованием продуктов, остающихся в сыворотке, что снижает степень перехода сухих веществ молока в сыр, и образованием термостабильных протеиназ и липаз, сохраняющих активность во время пастеризации молока и вызывающих протеолиз и липолиз в сыре в нежелательном направлении. Образование этих энзимов идет интенсивно при увеличении содержания психротрофов уровня свыше 10^6–10^7 КОЕ/мл [259, 1463]. Продолжительность возможного хранения молока с учетом этого требования зависит от температуры и исходного содержания психротрофов в молоке. Снижение температуры молока с 9 до 3° С, например, в 2,8 раза увеличивает время генерации *Ps. fluorescens* [119]. При исходном содержании в молоке около 10^4 КОЕ/мл психротрофов его можно хранить при 10–12° С не более суток, при 7–8° С – примерно 1,5 сут, при 4–5° С – более 2 сут (табл. 6.25). Если есть необходимость хранить молоко 4 и более суток, то температуру молока нужно снижать до 1–2° С. При этих температурах психротрофы не успевают размножиться до критического уровня и нанести ущерб качеству и выходу сыра. Кроме этого, при 1–2° С психротрофы перестают образовывать протеиназы и липазы.

По рекомендации ММФ сырое молоко после приемки на заводе необходимо охлаждать до температуры ниже 5° С, если оно проходит тепловую обработку не ранее чем через 4 ч; при температуре 4° С и ниже молоко можно хранить до 84 ч [869].

Следует отметить, что охлаждение молока до 2° С не может гарантировать его безопасность в отношении листериозов, поскольку их возникновение возможно при попадании в организм небольших количеств *List. monocytogenes* благодаря способности этого вида размножаться при 1–2° С. В России вспышек листериозов, связанных с молоком и молочными продуктами, пока не зарегистрировано.

Хранение при температурах ниже 8° С вызывает изменения физико-химических свойств молока – из мицелл выходит часть коллоидного фосфата кальция и цитратов, что ослабляет межмицеллярные связи [1278, 1605]. Это приводит к выходу из мицеллы значительного количества β-казеина и несколько меньших количеств $\varkappa$- и α-казеинов, что повышает скорость их расщепления протеолитическими энзимами молока и психротрофов, а также энзимами соматических клеток, и ведет к увеличению содержания γ-казеина. Эти изменения повышают стабильность мицелл к сычужному свертыванию, что выражается в замедлении последнего, а также приводят к получению слабого сгустка, низкой скорости синерезиса, увеличению потерь жира и белка (в виде сырной пыли) с сывороткой и, в конечном счете, к снижению качества и выхода сыра [16]. Время свертывания молока после хранения при 3–4° С увеличивается на 11% [1456].

Степень использования сухих веществ молока, хранившегося в течение суток при 5° С или 4 сут при 7,5° С, снижается на 0,5% по сравнению с молоком, хранившемся при 10° С и выше. При дальнейшем увеличении продолжительности хранения снижение выхода сыра идет более быстрыми темпами. Снижение степени использования сухих веществ молока в сыре маскируется повышением влажности сыра. Нежелательный эффект хранения молока при низких температурах частично снимается нагреванием такого молока перед выработкой сыра до 60–65° С (разд. 2.5.4) [380, 873].

Сычужное свертывание концентрированного молока, выдержанного с сычужным порошком при 6° С в течение 7 ч, после нагрева молока до 32° С происходило тем быстрее, чем больше была продолжительность выдержки молока при низкой температуре [1453]. Это означает, что холодильное хранение не оказывает отрицательного влияния на параказеиновые мицеллы.

Снижения выхода и качества сыра вследствие продолжительного хранения при низких температурах можно избежать тепловой обработкой молока перед его охлаждением и хранением [380]. Сыры, выработанные из молока, пастеризованного при 74° С в течение 10 с и затем выдержанного при 3° С в течение 7 сут, имели более высокое качество, чем сыры из контрольного молока, не подвергнутого тепловой обработке перед выдержкой. Выход Коттеджа, творога и Чеддера был выше, чем в контроле, на 5, 2 и 3% соответственно [265, 264]. Авторы объясняют увеличение выхода сыра связыванием денатурированных сывороточных белков с мицеллами казеина и удержанием β-казеина в мицелле. Однако Verdi et al. показали, что пастеризация неохлажденного молока при 74° С в течение 30 с не предотвращает миграцию β-казеина из мицеллы при последующем хранении этого молока при 4° С [1130]. Скорее всего, влияние тепловой обработки проявляется через микрофлору молока, так как пастеризация молока уничтожает большинство психротрофов. Даже термизация молока (65° С, 15 с) перед хранением при 5° С снижала содержание психротрофов в молоке на 85%; в термизованном молоке после 3 сут хранения их содержание было ниже критического уровня (менее 10^5 $г^{-1}$

психротрофов), что обеспечило хорошее качество сыра из этого молока [1053]. В термизованном перед хранением молоке содержание растворимого азота не менялось на протяжении 4-суточного хранения при 5° С, что свидетельствует об очень слабом развитии в нем психротрофов.

Горбатова и др. рекомендуют после холодильного хранения молока проводить его термизацию при температуре не выше 65° С, чтобы избежать денатурации сывороточных белков [1278]. Карликанова получила хорошие результаты, проводя термизацию молока при 65° С до хранения и пастеризацию его после хранения [1409].

Этим данным противоречат результаты опытов по термизации молока (65° С, 15 с) с последующим 3-суточным хранением при 7° С, согласно которым в отсутствие закваски термизация не предотвратила ухудшения технологических свойств молока и снижения выхода сыра [501]. По-видимому, эффект термизации зависит от исходного содержании психротрофов в молоке, а следовательно, от уровня гигиены производства молока и температуры хранения. Термизация не исправляет дефекты молока, обусловленные низкой гигиеной его получения, но позволяет дольше сохранить качество молока, полученного в хороших гигиенических условиях.

Положительное действие на сыропригодность молока при длительном хранении при низких температурах оказывает внесение в него перед хранением молочнокислых бактерий, что можно объяснить их ингибирующим действием на психротрофы [850, 1037], которое проявляется даже при отсутствии размножения молочнокислых бактерий. В закваски для ограничения роста психротрофов вводят виды и штаммы молочнокислых бактерий, обладающие специфическим антагонизмом к псевдомонадам [14, 158, 1463]. Положительное влияние оказывает также внесение в молоко после хранения перед свертыванием 0,2% $CaCl_2$ и добавление УФ ретентата обезжиренного молока, до сепарирования не хранившегося на холоде (разд. 2.5.4). При поступлении на завод молока, длительное время хранившегося на ферме при низкой температуре, его можно направлять на созревание при 8–12° С на 15–16 ч с добавлением хлористого Са и 1% закваски [23].

Подробно влияние холодильного хранения молока на его сычужную свертываемость и выход сыра разобрано в разд. 2.5.4.

9.3. Созревание молока

Цель созревания молока – улучшение его как среды для развития микрофлоры закваски и субстрата для молокосвертывающих энзимов. В процессе созревания должны быть: инактивированы природные антибактериальные системы молока; гидролизована небольшая часть белков молока с образованием доступных для микрофлоры заквасок азотистых соединений; снижен Eh; хотя бы частично восстановлены структура и состав мицелл казеина, нарушенные при холодильном хранении молока, если такое имело место.

Ведущую роль в созревании молока играет микрофлора, что отличает созревание от хранения, так как во время хранения любая активность микрофлоры молока нежелательна. О роли микрофлоры в созревании молока свидетельствуют результаты опытов, приведенные в табл. 9.1 [1618]. О молоке как среде для развития микрофлоры закваски судили по нарастанию кислотности молока, инокулированного 0,5% лактококковой закваски, за период созревания. Во время созревания сычужная свертываемость сырого молока улучшалась, а пастеризованного ухудшалась и продолжительность сычужного свертывания зрелого пастеризованного молока была значительно выше, чем зрелого сырого молока (128%). Причиной этого может быть снижение концентрации ионов Са в результате пастеризации, которое не было компенсировано созреванием пастеризованного молока, а также агрегация денатурированных сывороточных белков с мицеллами казеина.

***9.1. Изменение скорости сычужного свертывания и кислотообразующей активности микрофлоры мезофильных заквасок в результате созревания пастеризованного и сырого молока* [1618]**

Тип молока	Температура созревания, °С	Время свертывания до и после созревания		Скорость кислотообразования, % к скорости до созревания
		0 ч	24 ч	
Сырое	8	12′10″	11′30″	152
	10		11′10″	
	12		11″	
Пастеризованное при 72° С	8	13′30″	15′30″	110
	10		15′10″	
	12		14′50″	

Кислотообразующая активность микрофлоры в пастеризованном молоке перед созреванием была на 31% выше, чем в сыром молоке, что легко объяснить дезактивацией части природных антибактериальных систем молока пастеризацией. После созревания она была одинаковой в обоих случаях, что свидетельствует об истощении антибактериальных систем сырого молока во время созревания.

В термизованном перед созреванием молоке после созревания кислотообразующая активность лактококков была примерно на 8% ниже, чем в зрелом сыром и пастеризованном молоке. Это можно объяснить меньшей степенью дезактивации антибактериальных систем молока во время термизации по сравнению с пастеризацией и медленной дезактивацией их остатков во время созревания термизованного и пастеризованного молока, в которых большая часть микрофлоры была уничтожена. Результаты этого опыта можно расценивать как доказательство ведущей роли микрофлоры в созревании молока.

Strand считает наиболее благоприятной температурой созревания молока 16° С и увеличение кислотности молока во время созревания на 0,5° SH [1042]. Однако параметры созревания зависят от исходной кислотности молока и степени его обсеменения микрофлорой, поэтому основное внимание следует обращать на конечную кислотность молока после созревания, которая должна лежать в границах от 18 до 19° Т.

Созревание молока могут вести любые микроорганизмы. Крайне желательно, чтобы эту функцию выполняли молочнокислые бактерии, размножение которых в молоке в течение достаточно продолжительного времени приводит к образованию продуктов гидролиза казеина, снижению Eh и к истощению антибактериальных систем молока. Размножение молочнокислых бактерий в молоке во время созревания до определенного уровня не сопровождается побочными действиями, наносящими ущерб сыроделию. Допустимый уровень их размножения в молоке для производства твердых сыров определяется кислотностью, которая должна быть не выше 19° Т, так как молоко с более высокой кислотностью малопригодно или непригодно для выработки большинства твердых сыров. В производстве многих мягких сыров молоко может иметь кислотность 20–25° Т; в этом случае критерием законченности созревания молока является сохранение стабильности белков при пастеризации.

Оптимальная кислотность зрелого молока для выработки твердых сыров 18–18,5° Т [1696]. Одной из функций созревания молока, как указано выше, является подготовка его как среды для развития микрофлоры закваски. Развитие в молоке психротрофов может создать условия для активного развития микрофлоры закваски, поскольку они накапливают в молоке низкомолекулярные продукты протеолиза и снижают Eh молока, при этом кислотность молока остается ниже 17° Т. Стимулирующее действие психротрофов на рост микрофлоры закваски отмечают многие авторы [898]. Однако такое молоко нельзя считать сыропригодным из-за плохой сычужной свертываемости. Кроме того, при интенсивном развитии психротрофы могут ингибировать рост молочнокислых бактерий путем образования свободных жирных кислот.

В России созревание молока проводят при 8–12° С в течение 12–16 ч, за рубежом температуру созревания повышают до 12–15° С и молоко выдерживают при этой температуре до 24 ч. При 8–12° С происходит рост молочнокислых бактерий, физико-химические изменения в молоке незначительны по сравнению с его выдержкой при более низких температурах, а психротрофы при соблюдении правил гигиены молока не успевают в течение 12–14 ч размножиться до опасного уровня. В опытах Озола 24-часовое созревание сырого молока при 10° С уменьшило время сычужного свертывания на 11–14 мин, ускорило выделение сыворотки из сгустка и повысило энергию кислотообразования микрофлоры закваски на 5,9–27,4% [1548]. Таким образом, выдержка сырого молока при 8–12° С не более одних суток при его умеренном исходном бактериальном обсеменении обеспечивает получение зрелого молока

без негативных эффектов. Она может осуществляться во время резервирования молока как на молочной ферме, так и на молочном заводе. В России молоко на фермах обычно хранят при этих температурах, и поэтому на заводы большая часть молока поступает в зрелом виде. Такое молоко следует пропастеризовать и сразу отправлять на выработку сыра. При необходимости резервирования молоко после пастеризации хранят при температуре не выше 4° С до 8 ч. Более длительное хранение пастеризованного молока требует повторной тепловой обработки его перед переработкой на сыр для уничтожения бактериальных клеток, получивших во время пастеризации сублетальные повреждения и восстановивших активность во время хранения.

Молоко с кислотностью 16–17° С, если она вызвана не содержанием в сборном молоке маститного молока или низким содержанием белка и казеина (в противном случае молоко непригодно для выработки сыра по показателям, которые созревание молока не исправит), должно созреть. При низкой исходной бактериальной обсемененности молоко может созревать в сыром виде. При средней или высокой обсемененности необходимо принять меры, предотвращающие размножение до критического уровня микрофлоры молока во время созревания. С этой целью молоко перед созреванием термизуют или пастеризуют, а как микробиологический фактор созревания в молоко после тепловой обработки вносят обычную лактококковую или специальную, обладающую специфическим антагонистическим действием на психротрофы закваску в количестве 0,1–0,3% [1463, 1605]. Дозу закваски выбирают с таким расчетом, чтобы титруемая кислотность молока за время созревания повысилась на 1,5° Т, но не превысила 19° Т. В табл. 9.2 показано изменение кислотности молока во время 24-часового созревания при 10° С [1601]. Пастеризовали молоко при 72° С в течение 15 с.

***9.2. Изменение кислотности молока во время созревания* [1601]**

Тип созревания	Кислотность молока			
	исходная		после созревания	
	°Т	pH	°Т	pH
Сырое молоко	17,0	6,43	18,0	6,39
Сырое молоко, пастеризованное после созревания	16,5	6,42	17,5	6,36
Пастеризованное молоко	16,5	6,42	16,5	6,42
Пастеризованное молоко с закваской	17,0	6,41	18,0	6,39

В пастеризованном молоке с закваской кислотность за время созревания повысилась на 1° Т, в пастеризованном молоке без закваски она не изменилась, что доказывает размножение микрофлоры закваски во время созревания молока при 10° С. Медленно размножается она и во

время созревания молока при 8° С, о чем свидетельствует увеличение содержания клеток: до созревания после добавления закваски оно равнялось $2{,}3 \cdot 10^6$, после созревания – $8{,}9 \cdot 10^6$ КОЕ/мл [1605].

Влияние созревания пастеризованного молока с закваской на сычужную свертываемость и синерезис показаны в табл. 9.3. Время свертывания пастеризованного молока после созревания с закваской было практически таким же, как для зрелого сырого молока, синерезис зрелого сырого и пастеризованного молока были близкими, хотя несколько меньшими, чем у сырого молока. После пастеризации зрелого сырого молока его показатели ухудшились по сравнению с показателями молока, созревающего в пастеризованном виде с закваской. Созревание пастеризованного молока с закваской по сравнению с созреванием сырого молока с последующей пастеризацией улучшило качество твердых сыров с низкими температурами II нагревания на 2,7 балла [1605].

***9.3. Влияние созревания молока на сычужную свертываемость и синерезис сычужного сгустка* [1618]**

Тип созревания	Время созревания при 10° С, ч			
	0	24	0	24
	Время свертывания		Синерезис, %	
Сырое молоко	12′30″	11′	86,4	85,2
Пастеризованное (72° С, 20 с) с 0,2% закваски	15′	11′30″	84,4	84,2

Известно, что концентрация Ca^{2+} в молоке после пастеризации снижается, а это оказывает сильное отрицательное влияние на сычужное свертывание молока (разд. 2.5.4). Сырое молоко после созревания и последующей пастеризации содержит примерно 10,6 мг % Ca^{2+} [1423]; в пастеризованном перед созреванием и созревшем с участием закваски молоке содержание ионов Ca^{2+} равно 11,37 мг%, т. е. при этом способе созревания оно практически сравнялось с их содержанием в сыром молоке и несколько превысило их содержание в молоке, созревающем в сыром виде, после его пастеризации [1602, 1605].



Раманаускас Римас Иозович Род. 1934 г.

Для восстановления сычужной свертываемости молока после пастеризации в него вносят $CaCl_2$. Для достижения солевого равновесия при внесении в молоко солей требуется определенное время. Раманаускас с соавт. предлагают вносить $CaCl_2$ в количестве до 0,04% в пастеризованное молоко до его созревания с закваской [1605]. При этом приеме продолжительность свертывания и обработки сгустка снижается на 30–40%, повышается эластичность и уменьшается вязкость сырной массы.

Вагнер и Остроумов предложили такой режим созревания молока для выработки твердых сыров с высокой температурой II нагревания: термизация молока при 64–66° С, охлаждение до 10–12° С, внесение в молоко закваски из лактококков и *Lbc. plantarum* в количестве 10^4–10^7 КОЕ/мл и выдержка при этой температуре в течение 12–16 ч [1249]. По данным авторов, при использовании этого метода, по сравнению с созреванием сырого молока с пастеризацией после созревания, улучшается свертываемость молока, ускоряется синерезис, повышается степень использования сухих веществ молока, активизируется молочнокислое и пропионовокислое брожение в сыре, балловая оценка сыра увеличивается на 4,2 балла. Таким образом, этот метод заменяет пастеризацию молока термизацией.

Термизацию молока при 65° С выдерживает около 11% микроорганизмов, часть которых будет размножаться во время созревания молока. Поэтому замена пастеризации термизацией может быть допустима при производстве сыров только с высокими температурами II нагревания, поскольку обработка зерна при температуре 50–56° С, применяемая в их производстве, оказывает бактериостатическое и, по отношению к некоторым видам микроорганизмов, бактерицидное действие. В производстве сыров с низкими температурами II нагревания этот способ созревания был лучше, чем созревание сырого молока с последующей пастеризацией, но хуже, чем созревание пастеризованного молока с закваской; созревание термизованного молока без закваски вызывает горечь в сырах [1378, 1605].

Созревание пастеризованного молока с закваской имеет существенный недостаток. Пастеризация молока при 72° С в течение 15–25 с вызывает только сублетальные повреждения у значительной части клеток вредной микрофлоры. Клетки с сублетальными повреждениями не представляют большой опасности, если молоко перерабатывают на сыр сразу после пастеризации, поскольку определенное время они не размножаются, а когда полученные во время пастеризации повреждения будут устранены, условия для размножения большинства представителей вредной микрофлоры в сыре становятся неблагоприятными. Если же молоко после пастеризации направлять на созревание, то клетки с сублетальными повреждениями восстановят активность к началу выработки сыра. Нельзя исключить и повторное загрязнение пастеризованного молока посторонней микрофлорой во время созревания. Для устранения этого недостатка предложены схемы созревания молока с двойной тепловой обработкой: до и после созревания [98, 1335, 1605]. Ниже приведены две схемы созревания молока, предложенные Bochtier [98]. Обе схемы предусматривают тепловую обработку молока до созревания, внесение закваски. В первой схеме после созревания молоко не подвергается повторной тепловой обработке, во второй оно пастеризуется. В связи с этим первую схему можно рекомендовать для созревания молока с низкой исходной бактериальной обсемененностью и высоким уровнем гигиены производства. Активная кислотность во время выработки сыра, включая посолку, быстрее нарастала при использовании I схемы созре-

вания молока (pH сыров после 2-часового прессования 5,66 и 5,94), содержание влаги было выше в сырах при использовании II схемы.

На предприятия России поступает много молока с высоким содержанием микрофлоры. При необходимости его созревания рекомендована следующая схема подготовки молока: пастеризация, созревание с добавлением закваски, термизация перед выработкой сыра [1335]. Термизация молока перед выработкой дезактивирует вредную микрофлору, восстановившую активность после пастеризации или попавшую в молоко во время созревания, без ухудшения технологических свойств сгустка. В сырах, выработанных из подготовленного этим методом молока, содержание БГКП и стафилококков было в 2–10 раз ниже, чем в сырах из молока, созревающего в пастеризованном виде с закваской без термизации перед выработкой сыра. Оценка качества опытных сыров на 1–2 балла превышала оценку контрольных сыров.

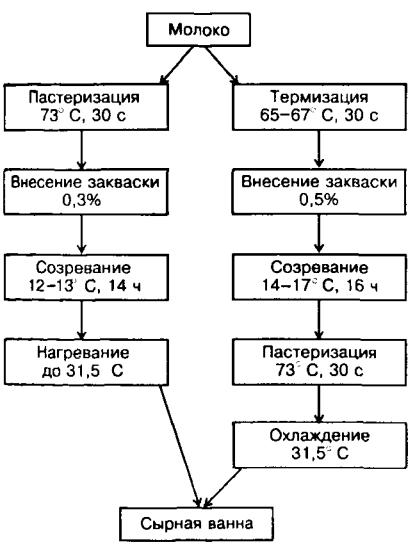


Рис. 9.1. *Схемы созревания молока, по Bochtier* [98]

При выработке Эмментальского сыра двойная тепловая обработка молока не оказала влияния на качество и микробиологические показатели продукта [1474], что доказывает нецелесообразность ее применения.

Для молока со средней или высокой исходной бактериальной обсемененностью литовскими учеными рекомендованы две схемы созревания молока:

- пастеризация при 72–76° С с выдержкой 15–25 с, внесение 0,2–0,4% закваски и 0,02–0,04% $CaCl_2$ в пересчете на безводную соль и выдержка при 8–10° С в течение 14–18 ч;
- термизация при 65° С в течение 15–25 с, выдержка при 8–10° С в течение 14–16 ч с последующей пастеризацией молока при 72° С [1605].

Словацкие ученые рекомендуют первый метод с добавлением 0,05% закваски сливочного лактококка [430].

Французской фирмой Roussel-Uclaf в качестве альтернативы созреванию предложено вносить в молоко для выработки мягких и мелких твердых сыров протеолитический энзим, выделенный из *Micrococcus caseolyticum* [1769]. Энзим вносят перед или во время добавления молокосвертывающих энзимов. Он повышает активность молочнокислого брожения, ускоряет созревание и улучшает качество сыров. Следует сказать, что этим методом не дезактивируются природные антибактериальные системы молока.

9.4. Обработка молока CO_2 и азотом

Хорошие результаты в ограничении роста психротрофов в молоке при низких температурах дает насыщение его углекислым газом [910] или азотом [761]. Насыщение молока азотом увеличило время, необходимое для размножения психротрофов при 4° С до уровня 10^7 КОЕ/мл, с 4 до 13 сут, а начало образования протеиназ при этом наступило в 18-суточном возрасте популяции. Количество *Ps. fluorescens* за 4 дня при 4° С возросло в аэробных условиях до 10^{10} КОЕ/мл, в атмосфере азота – до 10^7 КОЕ/мл [1660]. Уменьшение содержания кислорода в молоке с 9–12 до 1–3 мг/кг при 3° С увеличило время генерации *Ps. fluorescens* на 63% [119].

Обработка молока CO_2 заключается в его добавлении в молоко в количестве до 30 мМ CO_2 [380]. Во время тепловой обработки молока и выработки сыра добавленный CO_2 из молока улетучивается и не оказывает влияния на органолептические показатели сыра. В модельных опытах без добавления в молоко закваски скорости сычужного свертывания и выделения из сгустка сыворотки в опытном молоке были выше, чем в контрольном, но различия были обусловлены в основном снижением pH. Снижение pH молока с 6,6 до 6,0 добавлением CO_2 или молочной кислоты не оказывает видимого влияния на структуру сгустка. При выработке сыра в промышленных масштабах добавление CO_2 может вызвать определенные трудности из-за его неравномерного распределения в молоке в пределах ванны, что обусловливало неодинаковое оптимальное время для разрезки сгустка в различных его частях и потери белка и жира с сывороткой.

Ингибирующее действие CO_2 на рост микроорганизмов не связано или только частично связано со снижением парциального давления O_2 и pH в молоке. CO_2 ингибирует реакцию декарбоксилирования, растворяется в клеточной мембране и, возможно, влияет на внутриклеточный pH; псевдомонады к нему более чувствительны, чем энтеробактерии [914]. CO_2 увеличивает продолжительность лаг-фазы, оказывая незначительное действие на клетки в лог-фазе [897]. Время генерации *Ps. fluorescens* в молоке с 28,5 мМ CO_2 при 7° С увеличилось по сравнению с контролем с 5,3–7,7 ч до 14,3–16,7 ч. Время, необходимое для достижения биомассой уровня 10^6 КОЕ/мл, увеличивается с 2 до 4–5 сут [702, 897]. Насыщение

CO_2 Домашнего сыра, экспериментально обсемененного псевдомонадами в дозе 10^3 КОЕ/мл, позволило сохранить его качество в течение 70 сут при 4° С и 30 сут при 7° С; количество микроорганизмов в нем было в 10000 раз меньше, чем в контроле [168]. CO_2 в большей степени ингибирует синтез липаз, чем рост *Ps. fluorescens* [910]. При переработке молока с 30 мМ CO_2 на 50% сокращается потребность в сычужном энзиме [702].

CO_2 ингибирует рост в молоке не только псевдомонад, но и других микроорганизмов, в частности энтеробактерий, молочнокислых бактерий.

9.5. Тепловая обработка молока

Под тепловой обработкой понимается выдержка молока в течение определенного времени при температурах, вызывающих гибель части или всей его микрофлоры. В сыроделии применяют два основных типа тепловой обработки: пастеризацию и термизацию.

9.5.1. Пастеризация молока

Главной целью пастеризации является снижение содержания в молоке патогенных и технически вредных микроорганизмов до уровня, при котором они при последующем нормальном ходе производства сыра не могут нанести ущерба его качеству. Условием, ограничивающим параметры пастеризации, является отсутствие изменений состава и физико-химических свойств молока, оказывающих отрицательное влияние на выход и качество сыра, которые нельзя устранить при последующей обработке. К сожалению, полностью выполнить эти требования пока не удается.

На основании многочисленных исследований установлены минимальные температура и продолжительность выдержки молока, сливок и других жидких смесей на молочной основе, которые считаются достаточными для снижения содержания в них патогенных микроорганизмов до безопасного уровня. Часто для характеристики действия тепловой обработки на микроорганизмы используют так называемое *Д-значение* – время выдержки при данной температуре в минутах, необходимое для снижения количества жизнеспособных клеток вида в 10 раз. Д-значение зависит от температуры и вида микроорганизмов.

Эффективность пастеризации зависит от состава продукта, в частности от содержания в пастеризуемых продуктах жира, сухих веществ, а также их вязкости, степени обсеменения посторонней микрофлорой, дальнейших условий обработки, реализации и хранения. Минимальные режимы пастеризации устанавливаются с учетом свойств продукта: они равны для молока и обезжиренного молока – 63° С, 30 мин или 72° С, 15 с; сливок 10–20% жирности – 75° С, 15 с; более жирных сливок – 80° С, 15 с.

В России пастеризацию молока для производства твердых сыров проводят при температурах от 72 до 76° С в течение 20–25 с; молоко для выработки мягких сыров в зависимости от вида сыра пастеризуют при 75–85° С с выдержкой 20–25 с [1539].

Влияние режимов пастеризации на некоторые показатели молока отображено на рис. 9.2 [1147]. Приведены средние данные из различных источников.

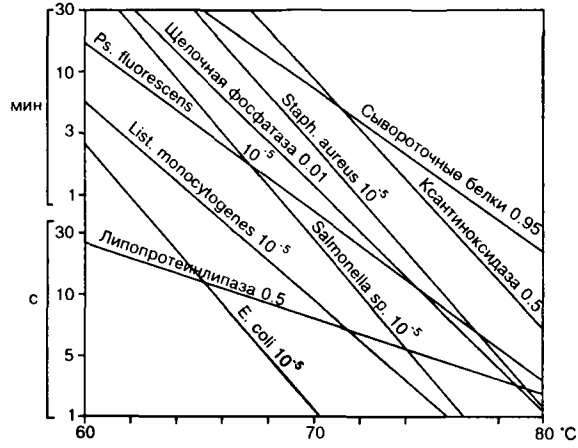


Рис. 9.2. *Влияние температуры и продолжительности выдержки молока на денатурацию сывороточных белков, ксантиноксидазы, щелочной фосфатазы, липопротеинлипазы, численность Staph. aureus, Ps. fluorescens, Salmonella, List. monocytogenes и E. coli. Цифры указывают на часть фракции, сохраняющей активность после тепловой обработки*

Из рис. 9.2 видно, что для того, чтобы снизить численность в молоке кишечной палочки, сальмонелл, *List. monocytogenes*, *Ps. fluorescens* в 10^5 раз требуется при температуре пастеризации 72° С от менее одной до нескольких десятков секунд. Содержание патогенных микроорганизмов в сборном молоке обычно много ниже, чем 10^5 клеток/мл, поэтому при нормальном ходе процесса выработки и созревания минимальный режим пастеризации молока обеспечивает безопасность продукта по отношению к основным возбудителям инфекций, передающихся через молоко. Исключением является ботулизм, но случаи заболеваний ботулизмом через натуральные сыры крайне редки. Из технически вредных микроорганизмов пастеризация молока не обеспечивает достаточное уничтожение термостойких молочнокислых бактерий и спор маслянокислых бактерий.

В табл. 9.4 приведен средний состав микрофлоры пастеризованного молока, по обобщенным Перфильевым литературным данным. В таблице представлены только бактерии, которые наиболее часто присутствуют в сыром молоке и могут оказать влияние на качество сыра. Из приведенных данных видно, что пастеризованное молоко является постоянным источником обсеменения сыров небольшими количествами

стафилококков, БГКП, мезофильных лактобацилл, заметным количеством энтерококков. В большинстве своем выдержавшие пастеризацию клетки находятся в состоянии теплового шока (кроме спор, термофильных и термостойких бактерий) и опасности для качества сыра и здоровья потребителей не представляют, но только при нормальной активности молочнокислого процесса.

9.4. Микрофлора пастеризованного молока

Микроорганизмы	Режим пастеризации	Частота обнаружения, %	Количество в 1 см^3, КОЕ	% от исходного количества
Псевдомонады	71–72° С, 20с	0,01±0,06	10±60	0,03±0,03
	74–76°С, 20с	0	0	0
БГКП	71–72°С, 20с	0,08±0,12	6±6	0,04±0,04
	74-76°С, 20с	0	0	0
Стафилококки	71–72°С, 20с	0,9±0,9	14±10	0,08±0,6
	74–76°С, 20с	0,01±0,015	1–2	0,02±0,02
Энтерококки	71–72°С, 20с	36±23,4	$(3,5\pm1,2)\cdot10^3$	28,7±2,8
	74–76°С, 20с	5,6±6,4	$(2,9\pm1,1)\cdot10^3$	7,5±2,3
Лактобациллы: мезофильные	71–72°С, 20с	1,5±2,4	11±5	0,06±0,03
	74–76°С, 20с	0	0	0
термофильные	71–72°С, 20с	9,6±4,8	$(5\pm10)\cdot10^2$	2,8±2,3
	74–76°С, 20с	5,2±1,3	(6±5)·10	1,3±1,8
Клостридии	71–72°С, 20с	91,7±12,5	$(2\pm1,8)\cdot10^2$	1,1±0,7
	74–76°С, 20с	82,3±6,4	1,3±0,7	0,13±0,18

В твердых сырах большинство патогенных микроорганизмов во время созревания постепенно вымирает. Несколько большую опасность они представляют в сырах без созревания и в тех видах мягких сыров, pH которых в процессе созревания повышается до уровня, благоприятного для развития патогенных бактерий. При этом опасность передачи инфекций через свежие сыры возникает только в случае низкой активности молочнокислого брожения.

Даже минимальные режимы пастеризации вызывают нежелательные изменения физико-химических свойств молока. Это, прежде всего, осаждение части ионов Ca^{2+}, играющих важнейшую роль в сычужном свертывании молока (табл. 9.5) [1605]. Этот дефект устраним внесением в пастеризованное молоко хлористого кальция или фосфата кальция. Пастеризация инактивирует большую часть энзимов молока, из которых определенную роль в сырах с высокой температурой II нагревания играет плазмин, поскольку молокосвертывающие энзимы при их производстве

инактивируются во время II нагревания. Пастеризация не полностью разрушает природные антибактериальные системы, что делает необходимым созревание молока. Пастеризация при 72° С, 20 с, снижает в молоке содержание растворимых белков на 3% [71].

***9.5. Влияние температуры пастеризации при выдержке 20–25 с на содержание Ca^{2+} в молоке* [1605]**

Температура, °С	Содержание Ca^{2+}	
	мг %	% от контроля
0 (контроль)	13,30	100,00
74	11,05	84,76
81	10,34	78,75
88	10,20	77,68
94	9,88	75,25
115 (3 с)	9,70	77,83
125 (3 с)	9,64	73,42
135 (3 с)	9,26	70,53

В повышении температуры пастеризации молока для производства твердых сыров нет большой необходимости, так как снижение гигиенических показателей сыров из пастеризованного по установленным режимам молока обусловлено главным образом низкой активностью молочнокислого брожения, а не низкой эффективностью пастеризации.

Ужесточение режима пастеризации вызывает увеличение степени денатурации сывороточных белков, особенно β-лактоглобулина, который осаждается на мицеллах казеина, а также изменение содержания мицеллярного фосфата кальция (разд. 2.5.4 и 2.6.3). В результате этих изменений ухудшается сычужная свертываемость молока, снижаются прочность сгустка и скорость синерезиса, увеличивается количество сырной пыли и содержание влаги в сыре, сыр приобретает кислый и горький вкус, крошливую консистенцию.

Иное положение с кисломолочными сырами, поскольку механизм кислотного свертывания отличается от сычужного (разд. 2.7.2). В этом случае часто применяют высокотемпературную обработку молока (85° С, 10–40 мин; 98° С, 0,5–2,0 мин; 140° С, 2–8 с) [402]. При такой обработке денатурируется свыше 80% сывороточных белков, которые соединяются через дисульфидные мостики с $\varkappa$-казеином на поверхности казеиновых мицелл. Комплексы $\varkappa$-казеин–сывороточные белки образуют нити, выступающие над поверхностью мицеллы. При дальнейшем нарастании кислотности при участии этих нитей образуется разветвленная пространственная структура, хорошо удерживающая сыворотку. Это предотвращает самопроизвольное выделение сыворотки, которое является распространенным пороком кисломолочных сыров,

вырабатываемых из молока, пастеризованного при минимальных режимах, и обусловливает нежную консистенцию продукта.

Повышение температуры пастеризации молока в производстве твердых сыров с целью использования сывороточных белков и уничтожения спор маслянокислых бактерий продолжает привлекать внимание исследователей. Для устранения указанных выше недостатков пастеризации молока при повышенных температурах предлагается модернизировать технологию выработки сыров. Раманаускас и Шаломскене считают возможным повысить температуру пастеризации молока с кислотностью не выше 18° Т в производстве сыров «голландского» типа до 82 °С, полужирных сыров – до 85° С, а молока с кислотностью выше 18° Т – до 78° С [1605]. В пастеризованное при повышенных температурах молоко для восстановления технологических свойств вносят 0,1–0,4% закваски и направляют его на созревание при 8–10° С в течение 12–18 ч. В смесь для выработки сыра вносят 70% зрелого молока, кислотность смеси перед свертыванием для голландского сыра – 18–20° Т, литовского – 19–21° Т. Температуру II нагревания для ускорения синерезиса повышают на 1–2° С. Выработанные по этой технологии сыры не уступали по качеству сырам из молока, пастеризованного при обычной температуре. Таким образом, для восстановления технологических свойств молока после пастеризации при повышенных температурах авторы использовали созревание молока с закваской, повышение кислотности молока и температуры II нагревания. Обязательное созревание молока после пастеризации существенно увеличивает продолжительность выработки сыра и необходимость в технологическом оборудовании и производственных площадях, что делает сомнительной выгоду от такой пастеризации.

Нежелательные последствия высокотемпературной обработки молока можно почти полностью ликвидировать снижением pH молока до 5,8 и последующим повышением его перед добавлением молокосвертывающих энзимов до 6,3 (Davis & While, 1960) [213]. При снижении pH из мицеллы выходит часть мицеллярного фосфата кальция, а после повышения pH происходит реформация мицелл с восстановлением нормальной структуры. В опытах Hoodonk et al. прямое подкисление молока ничего не дало, а выдержка молока с пониженным pH в течение 24 ч с последующей нейтрализацией улучшила сычужную свертываемость молока после высокотемпературной обработки [451]. Наибольший эффект дает комбинация подкисления молока с добавлением хлористого Са в молоко после температурной обработки.

Banks предложила метод производства сыра Чеддер, повышающий выход сыра на 4,9–7,5% без образования горечи [45]. Схема производства сыра, по Banks, показана на рис. 9.3. Особенностями предлагаемой технологии являются: ужесточение режима пастеризации (при этом второй режим (110° С) обеспечивает уничтожение большей части спор *Cl. tyrobutyricum*), повышение кислотности молока после пастеризации, нейтрализация молока перед выработкой сыра до pH 6,4 с помощью 4 М

NaOH, снижение дозы сычужного порошка на 10% по сравнению с обычной (снижение pH свертывания молока до 6,4 позволяет уменьшить дозу сычужного энзима), увеличение в два раза продолжительности вымешивания. Качество опытных сыров было несколько ниже, чем контрольных: в опытных сырах некоторых выработок обнаружили легкую горечь, кислый, нечистый, броженый, фруктовый вкус, в контрольных сырах был отмечен только излишне кислый вкус. Средняя оценка за качество по 8-бальной системе равнялась: опытных сыров – 3,17 балла, контрольных – 4,77 балла. Таким образом, рекомендуемая схема полностью не ликвидировала отрицательные последствия высокотемпературной обработки молока.

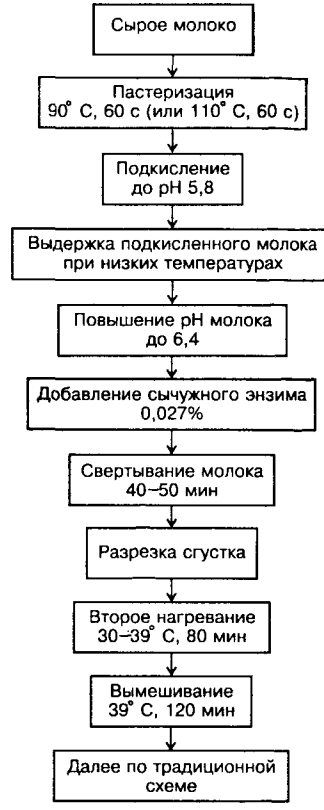


Рис. 9.3. *Схема производства сыра из молока, подвергнутого высокотемпературной пастеризации* [45]

Сыр Моцарелла удовлетворительного качества был выработан из молока, пастеризованного при 130° С в течение 2 с [932]. В этом опыте свертывание молока проводили при pH 5,6, выход сыра увеличился на 3–4%. Следует отметить, что свертывание молока при pH 5,6 применяют в производстве этого вида сыра с прямым подкислением молока лимонной или уксусной кислотой без использования закваски [577].

Гудков С. с соавт. показали возможность частичного восстановления технологических свойств молока, пастеризованного при 90° С, в производстве сыра Волжский (группа Российского сыра) снижением pH свертывания молока до 5,9, увеличением дозы хлористого кальция с 1,8 до 5,4 мМ (или частичной заменой его однозамещенным фосфатом кальция) и повышением температуры свертывания с 32 до 36° С [1290, 1336]. При повышении температуры пастеризации до 77–79° С в производстве Волжского сыра хорошие результаты получены при созревании пастеризованного молока с закваской и термизации его перед выработкой сыра.

Применение высокотемпературной пастеризации и повышение дозы $CaCl_2$ увеличило на 15% выход и улучшило органолептические показатели рассольного сыра Фета [980]. Макарьян восстановил технологические свойства пастеризованного при 85–89° С с выдержкой в течение 20–25 с молока для выработки рассольных сыров Чанах и Лори добавлением в него четырехзамещенного пирофосфорнокислого натрия или триполифосфата натрия [1508]. Положительные результаты получены при производстве Сулугуни с использованием высокотемпературной пастеризации и подкисления молока [1534].

Для уменьшения отрицательного действия высокотемпературной пастеризации на технологические свойства молока пытаются изменить конструкцию пастеризаторов. Голландской фирмой Den Hollander Engineering сконструирован пастеризатор по типу «падающей струи» [1130]. Пастеризуемый продукт нагревают до 65°С и подают в верхнюю часть цилиндрической колонки, заполненную перегретым паром, откуда он стекает в контакте с паром в течение 0,5 с. Высота колонки 3 м. При использовании пастеризатора снижаются потери и степень денатурации сывороточных белков за счет отсутствия осадка на рабочих поверхностях. Температуру продукта можно устанавливать в интервале от 75 до 160° С.

Пастеризация молока прямой инжекцией пара по сравнению с высокотемпературной пастеризацией при производстве бразильского сыра Прато повысила степень использования белка и жира, понизила степень денатурации сывороточных белков и увеличила выход сыра на 5,2% [333].

Пастеризация – ключевая операция по обеспечению безопасности молочных продуктов и контроль правильного ее проведения должен быть чрезвычайно строгим. Контроль ведется в двух направлениях:

- обеспечение заданного режима пастеризации, что достигается правильной работой автоматических устройств по соблюдению режима пастеризации, регулярной калибровкой контрольного термометра, надежностью работы возвратного клапана, стабильностью подачи молока, от которой зависит продолжительность его выдержки при температуре пастеризации, правильным размещением датчиков температуры, ежедневным анализом термограмм, контролем пастеризации по фосфатазной пробе и микробиологическими методами;
- предупреждение загрязнения пастеризованного молока посторонней микрофлорой в пастеризаторе, которое может произойти в секциях регенерации и охлаждения при неисправности прокладок между пластинами, наличии микротрещин в самих пластинах, а также из-за размножения термостойкой микрофлоры, в частности термофильного стрептококка в секции регенерации из-за нарушений правил мойки и дезинфекции пастеризационных установок. Для предотвращения загрязнения пастеризованного молока сырым или охлаждающими агентами давление в секции пастеризованного молока должно превышать давление сырого молока или охлаждающих агентов [869].

9.5.2. Термизация молока

Термизация – это тепловая обработка молока при более мягких режимах, чем режимы пастеризации. По Казалису ее проводят при 57–68° С с выдержкой 15 с [71], но обычно – при 63–65° С с выдержкой 10–20 с. Она применяется для регулирования микробиологических и технологических процессов в производстве сыра и не может заменить пастеризацию, кроме частных случаев, когда наряду с ней применяются другие средства дезактивации патогенной микрофлоры.

В табл. 9.6 показано влияние термизации на содержание микроорганизмов в молоке [71]. Термизация снижает его в молоке в 5–100 раз, в результате чего численность психротрофов в первом и втором образцах молока через 4 сут хранения при 7° С не превышает допустимого уровня; в третьем образце с высокой общей исходной бактериальной обсемененностью она была близка к этому уровню после 3 сут хранения.

9.6. Влияние термизации на микрофлору молока [71]

Температура,°С; выдержка, с		Содержание бактерий, тыс. КОЕ/мл			
		исходное	после обработки	3 сут, 7° С	4 сут, 7° С
I	64,2; 20	50	3,3	6,4	6,5
	60,3; 20	50	4,3	3,3	32,0
II	64,0; 15	80	8,0	6,3	37,0
	62,0; 15	80	8,0	10,0	130,0
	59,5; 15	80	14,0	20,0	440,0
III	64,0; 12,5	1500	14,0	14,0	13,0
	62,0; 12,5	1500	24,0	59,0	91,0
	60,0; 12,5	1500	56,0	560,0	1400,0

Термизация снижает активность щелочной фосфатазы на 7–45%, другие энзимы молока к ней малочувствительны.

Замена пастеризации термизацией при 65–70° С уменьшает время сычужного свертывания молока в производстве твердых сыров на 2–10%, ускоряет созревание, повышает качество сыра; она особенно полезна зимой [747, 1360]. Пастеризацию считают наиболее вероятной причиной недостаточно выраженного вкуса сыров [1147]. Несмотря на эти преимущества, термизация на фоне роста пищевых отравлений во всем мире может заменить пастеризацию только при наличии комбинации следующих факторов: высокого бактериального качества молока и отличных гигиенических условий выработки сыра; достаточно длительного созревания сыров (за исключением тех видов мягких сыров, в которых длительное созревание сопровождается слишком большим повышением pH); высоких температур II нагревания.

Следует отметить, что проведение термизации способствует загрязнению пастеризатора термофильным стрептококком, который может вызвать пороки твердых сыров с низкими температурами II нагревания.

9.6. Гомогенизация молока

Гомогенизация увеличивает время сычужного свертывания, замедляет синерезис, снижает прочность сгустка, повышает влажность сыра, увеличивает скорость липолиза, снижает потери жира с сывороткой, а также влияет на структуру сгустка, делает консистенцию сыра более однородной и мягкой, мажущейся. Влияние гомогенизации обусловлено разрушением оболочки жировых шариков и вкраплением ее фрагментов в параказеиновый каркас сгустка, что уменьшает долю казеина на поверхности мицелл, снижает скорость агрегации параказеиновых мицелл и способность сгустка к сжатию. Влияние гомогенизации молока на синерезис сычужного сгустка показано в табл. 9.7 [1250]. Раздельная гомогенизация (сепарирование молока с получением сливок 10% жирности, гомогенизация сливок при тех же температурах и давлении, при которых гомогенизируют молоко) уменьшала недостатки гомогенизации молока только частично.

9.7. Влияние гомогенизации молока на синерезис сычужного сгустка [1250]

Образцы молока	Кол-во выделившейся сыворотки (в % к сгустку из негомогенизированного молока)			
	10 мин	20 мин	30 мин	42 мин
Гомогенизиров., 50 атм	100,4	83,1	83,7	84,8
Раздельно гомогенизиров.	108,3	91,0	89,5	91,0

Подача молока в сырную ванну с большой высоты может привести к сбиванию жира [1147]. Это происходит, если холодное молоко нагреть до 38° С и сразу подать в ванну. Для того чтобы предотвратить сбивание жира, молоко нужно нагреть до более высокой температуры, дать молочному жиру расплавиться, охладить его до 30° С и подавать в ванну. Однако проще трубу для подачи молока опустить до дна ванны. Липолиз может вызывать вспенивание молока. Гомогенизация молока может предотвратить подсбивание жира.

Большинство указанных изменений свойств молока при гомогенизации оказывает отрицательное влияние на качество твердых сычужных сыров, поэтому она не нашла достаточно широкого применения в их производстве. Она применяется в производстве сыров с развитием плесени по всему интерьеру головки. При выработке отечественного Рокфора гомогенизация молока повысила степень использования сухих веществ молока, ускорила созревание и липолиз (рис. 9.4), уменьшила усушку и выделение жира на поверхности головки, увеличила скорость диффузии соли и повысила качество сыра [1250]. Повышение давления гомогенизации с 50 до 150 атм усилило положительное действие гомогенизации: общая оценка опытных сыров из гомогенизированного при 150 атм молока превышала оценку сыров из негомогенизированного молока на 9,5 балла [1250, 1251].

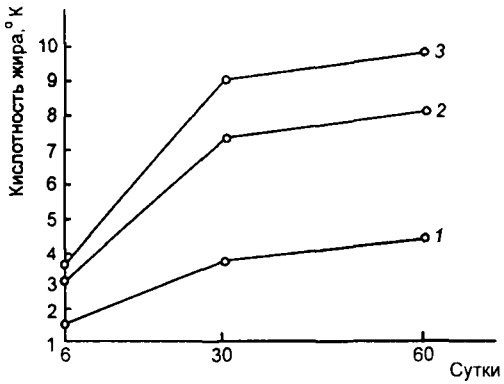


Рис. 9.4. *Нарастание кислотности жира в сыре Рокфор: 1 – контрольный сыр из негомогенизированного молока; 2 – сыр из раздельно гомогенизированного при 50 атм молока; 3 – сыр из раздельно гомогенизированного при 150 атм молока*

Датский голубой (Данаблю), относящийся к тому же классу, что отечественный Рокфор, вырабатывают из сырого молока, так как считается, что этот сыр высокого качества из пастеризованного молока не выработать из-за разрушения при 72° С в течение 15 с более 15% природной липазы молока [768]. Молоко для его выработки термизуют при 60–65° С и гомогенизируют для ускорения липолиза и повышения водосвязывающей способности сырного теста, улучшения консистенции и повышения выхода. При излишнем липолизе и влажности сыра рекомендуется раздельная гомогенизация, с гомогенизацией части сливок [1539]. Кислотность жира в зрелом сыре Данаблю находится в интервале 30–50 мэкв/100 г жира, если в нем предотвратить развитие *Pen. roqueforti*, то она снижается до 20 мэкв/100 г. Это значит, что в сырах из сырого молока значительная часть липолиза обусловлена действием липазы молока [768]. Сывороточные белки прочно связываются с компонентами оболочки жировых шариков, если тепловую обработку проводят после гомогенизации [637].

К группе сыров с развитием плесневых грибов по всему интерьеру головки принадлежит другой датский сыр, Мицелла, который вырабатывают без гомогенизации молока; вкус этого сыра не такой острый, как вкус сыра Данаблю [768].

Разновидностью гомогенизации является микрофлюидизация [637]. При этом методе молоко под высоким давлением поступает в камеру, где разделяется на два потока, проецируемых под углом 180° друг на друга (US Pat 4 533 254). По сравнению с традиционным методом при микрофлюидизации образуется более узкий спектр жировых шариков по размеру, прочность сычужного сгустка снижается в меньшей степени. Микрофлюидизацию проводят при 7–69 МПа. Чеддер из микрофлюидизированного молока содержал больше влаги, причем влаж-

ность его возрастала с возрастанием давления микрофлюидизации (от 35% в контроле до 39,3% при 69 МПа); выход сыров за счет снижения потерь жира с сывороткой и повышения влажности увеличился на 4,3%, степень использования жира возросла с 88 до 97,2% [637]. Тесто опытных сыров белого цвета, как у сыров из овечьего молока. Гомогенизацию в сыроделии начали применять в начале XX века именно для изменения цвета плесневых сыров из коровьего молока, чтобы они походили на Рокфор, вырабатываемый из овечьего молока [768].

9.7. Вакуумирование, дезодорация молока

Вакуумирование молока после пастеризации в течение 10 мин снижает продолжительность сычужного свертывания в весенне-зимний период на 2–3%, а в летний – на 7,5–10%, существенно ускоряет скорость синерезиса (разд. 2.6.3, рис. 2.26) [1454]. При вакуумировании из молока вместе с газами удаляются летучие соединения, ответственные за посторонние запахи, т. е. происходит дезодорация молока. Дезодорацию проводят во время пастеризации молока. В зависимости от температуры молока, поступающего в дезодоратор из секции регенерации, поддерживается следующая величина вакуума:

температура молока, °С	40–45	70–72	74–78
вакуум, кПа	92–90	68–62	60–30

После вакуумной обработки молоко направляют в ванну по трубопроводу, который опускают возможно ближе ко дну для предотвращения обогащения молока воздухом.

9.8. Нормализация молока

Содержание и степень использования жира в сыре зависят от отношения в смеси содержания жира к белку. Для получения стандартного по содержанию жира сыра смесь нормализуют. Нормализацию лучше проводить с помощью сепаратора-нормализатора. Допускается нормализация обезжиренным молоком или сливками, полученными сепарированием части молока. Недостатком второго способа является необходимость хранения обезжиренного молока или сливок иногда в течение длительного времени, когда может произойти их загрязнение посторонней микрофлорой, реактивация микрофлоры, находящейся в состоянии теплового шока после тепловой обработки, изменение физико-химических свойств белков.

Для нормализации молока в сыроделии можно использовать привозное обезжиренное молоко, например, полученное на маслозаводах. Это повышает эффективность использования молока для выработки сыра, но нужно следить, чтобы закупаемое обезжиренное молоко не было подвергнуто пастеризации при высоких температурах [119].

Можно нормализовать молоко с помощью казеината натрия или кальция. Казеинат добавляют в молоко перед пастеризацией; его разводят в 10% молока и выдерживают ночь при 4° С до полной гидратации.

Сыр Гауда, выработанный из нормализованного этим методом молока, не отличался от контроля.

Вопросы нормализации подробно изложены в сборнике технологических инструкций по производству твердых сычужных сыров.

9.9. Заключение

Подготовка молока, включая тепловую обработку, проводится с целью улучшения его свойств как среды для развития микрофлоры закваски и субстрата для молокосвертывающих энзимов, максимального освобождения от патогенных и технически вредных микроорганизмов, удаления механических загрязнений. Улучшение молока как среды для развития микрофлоры закваски состоит в дезактивации природных антибактериальных систем молока, образовании небольших количеств низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот, необходимых для стартового развития лактобактерий, снижении Eh. Улучшение указанных свойств молока происходит при созревании молока или хранении сырого молока при 8–10° С.

Повышение кислотности молока до 18–18,5° Т во время созревания или хранения, обогащение молока Ca^{2+}, в некоторой степени вакуумирование улучшают сычужную свертываемость молока. Пастеризация и термизация молока предназначена для уничтожения патогенной и технически вредной микрофлоры. Кроме этого, во время хранения молока при температурах ниже 8° С мицеллы казеина сильно изменяются, что ухудшает сычужную свертываемость и выход сыра. Пастеризация перед выработкой сыра частично устраняет дефекты молока, возникающие во время холодильного хранения. Гомогенизация молока стимулирует липолитические процессы, что очень важно для формирования специфических органолептических показателей плесневых сыров.

В период после выхода молока из вымени и до начала выработки из него сыра технология его обработки должна предотвратить или максимально ограничить размножение патогенной и технически вредной микрофлоры, в частности психротрофной. Предотвратить размножение психротрофов можно путем резервирования и созревания пастеризованного молока с термизацией перед началом переработки, обработкой молока углекислым газом.

ГЛАВА 10

СОЛЬ В СЫРЕ: ФИЗИЧЕСКИЕ, ХИМИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

10.1. Общие положения

Соль в сыре является необходимым компонентом пищевой ценности; принимает непосредственное участие в формировании вкуса и консистенции; регулирует микробиологические, биохимические и физико-химические процессы во время выработки и созревания сыра и тем самым оказывает косвенное влияние на показатели качества.

Как компонент пищевой ценности соль выступает потому, что Na – необходимый элемент в питании людей: взрослому в сутки необходимо ~ 4 г Na. На самом деле человек потребляет с пищей в 3–5 раз больше Na, чем требуется [401]. *Избыток Na в диете способствует развитию гипертонии и интенсифицирует выведение из организма Ca, что ведет к развитию остеопороза.* В связи с этим одним из направлений гигиены питания является снижение содержания соли в диете. Гигиенические аспекты содержания соли в сыре изложены в гл. 13. В этой главе рассмотрено прямое и косвенное влияние содержания соли в сыре на микробиологические и органолептические показатели сыров.

10.2. Активность воды ($A_в$)

Рост и размножение микроорганизмов, энзиматические процессы могут происходить только при наличии в среде в доступной форме определенного количества воды. Количество доступной для микроорганизмов воды характеризуется *активностью воды* (A_w, или $A_в$). $A_в$ не равняется содержанию воды в среде, так как растворенные в воде вещества связывают часть воды, делая ее недоступной для микроорганизмов. Ингибиторное действие растворенной в среде соли на микроорганизмы, а также на физические и биохимические процессы, в основном обусловлено связыванием ею воды. По-видимому, какую-то роль играют и другие факторы, так как величины минимальной $A_в$ для роста микроорганизмов зависят от типа водосвязывающих веществ [1044, 1636].

Активность воды количественно измеряется относительной влажностью p/p_0, где p – давление паров исследуемой среды, p_0 – давление паров дистиллированной воды. Для растворов известного состава $A_в$ можно найти из уравнения:

$$\ln A_в = -vmf / 55{,}5 \qquad (10.1)$$

где v – число ионов, образованных каждым растворенным веществом (для неэлектролитов $v=1$, для $NaCl$ – 2, для $MgCl_2$ – 3 и т. д.), m – молярная концентрация растворенного вещества и f – молярный осмотический коэффициент, значения которого даются в справочных руководствах [946, 1636].

В сырах точное определение $A_в$ расчетным путем практически невозможно из-за большого количества растворенных в его водной фазе веществ, концентрация которых меняется во времени и пространстве. Классический тензометрический метод определения $A_в$ требует больших затрат труда и времени [1307]. Существуют инструментальные методы определения активности воды, но необходимых для этого приборов пока нет на российском рынке. Есть предложение использовать для определения $A_в$ в сыре криоскопический метод, применяемый для рутинного определения качества молока [137]. $A_в$ в соответствии с методом определяется согласно уравнению:

$$A_в = 1{,}0155 + 0{,}1068\ F.P., \qquad (10.2)$$

где F.P. – точка замерзания водного экстракта сыров, полученного в стандартных условиях.

В молодом сыре, особенно содержащем больше 40% воды, $A_в$ можно приблизительно определять по уравнению [684]:

$$A_в = 1 - 0{,}033m, \qquad (10.3)$$

в котором m – молярность NaCl в водной фазе сыра.

Величина $A_в$, определенная этим методом, будет выше действительного значения, так как в молодом сыре воду будут связывать кроме соли продукты брожения лактозы, концентрация которых достаточно высока. В Российском сыре с частичной посолкой в зерне при содержании 0,68% NaCl и 44% влаги после прессования (1,52% соли в водной фазе сыра) $A_в$, определенная тензометрическим методом, равна 0,978–0,980, а при содержании 1,52% NaCl (3,4% в водной фазе) – 0,967 (по уравнению (10.3) – 0,98) [1307, 1330]. В табл. 10.1 показано содержание соли и $A_в$ в наиболее распространенных зарубежных сырах [1072].

Для характеристики активности воды часто используют показатель содержания соли в водной фазе сыра (С/В), равный (в %): $\frac{100C}{C+B}$, где C – содержание соли в сыре, %; B – содержание влаги в сыре, %.

Значения $A_в$ для роста наиболее важных для сыроделия бактерий даны в гл. 3 и 6, для лактобактерий показаны на рис. 10.1 [1330]. Рост сливочного лактококка и молочного лейконостока прекращался при $A_в$ = 0,975 [1330]. Такую активность воды можно установить в мясопептонном бульоне с глюкозой добавлением 3,89 г NaCl/100 мл. Минимальные значения $A_в$ равны для *Lc. diacetylactis* 0,960–0,965 (6,5–5,6 г NaCl/100 мл), *Lc. lactis* 0,955–0,965 (7,3–5,6 г/100 мл), *Lbc. plantarum* 0,950 (8,1 г/100 мл) и *Ent. faecalis* 0,935 (10,6 г/100 мл) [1330]. В определенном интервале активности воды развитие молочнокислых бактерий, включая кислотообразование, держится на постоянном уровне, затем при приближении к нижней границе активность бактерий резко снижается. Накопление клеток *Lc. cremoris* начало замедляться в среде с $A_в$ = 0,85 (меньше 3 г/100 мл), *Lc. lactis* – в среде с $A_в$= 0,975 (меньше 3,89 г/100 мл).

10.1. Содержание соли и активность воды в промышленных сырах [1000]

Виды сыра	Содержание, %		NaCl в водной фазе, %	Активность воды[1] (средняя)
	воды	NaCl		
Чеддер	37–38	1,6–1,8	3,3–4,9	0,95
Эмменталь	36	0,8	2,2	0,972
Пармезан	33	2,1	6,4	0,917
Качкавал	37–39	1,6	4,1–4,3	нет данных
Эдам	47–51	1,3	3,1	0,960
Гауда	46–51	1,3	2,5–2,8	0,950
Маасдам	42	1,3	3,1	нет данных
Тильзит	40–57	1,3–2,0	2,3–5,0	0,962
Голубой сыр	37–55	1,7–2,4	3,1–6,5	0,970[2]
Бри	44–46	1,5–1,8	3,3–4,1	0,980
Камамбер	46–61	1,6–1,8	2,6–3,9	0,982
Фета	56–63	3,0	4,8–5,4	нет данных
Лимбургский	51–53	1,8	3,4–3,5	0,974
Мюнстер	51	1,8–2,3	3,5–4,5	0,977

[1] 25° С; [2] Горгонзола

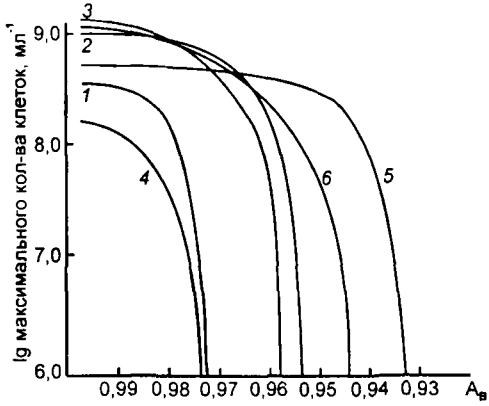


Рис. 10.1. *Влияние активности воды ($A_в$) на накопление клеток молочнокислых бактерий в мясо-пептонном бульоне с глюкозой и различным количеством NaCl: 1 – Lc. cremoris; 2 – Lc. lactis; 3 – Lc. diacetylactis; 4 – Leuc. lactis; 5 – Ent. faecalis; 5 – Lbc. plantarum*

По данным других авторов, минимальная граница содержания соли в среде для накопления биомассы *Lc. cremoris* равна 3%, для кислотообразования она несколько выше [1000]. Некоторые различия в значениях $A_в$, при которых прекращается рост лактобактерий, полученных разны-

ми авторами, могут быть обусловлены вариабельностью устойчивости штаммов к соли в пределах вида.

Минимальная активность воды для роста большинства представителей микрофлоры, способной ухудшить качество сыров, ниже, чем значения $A_в$ в продукте. Однако минимальную $A_в$ для роста микроорганизмов определяют при прочих оптимальных условиях среды, а в сырах эти показатели (pH, температура, Eh, обеспеченность энергетическими источниками) также близки к предельным, что резко повышает минимальный уровень активности воды для роста. Это делает соль важным фактором регулирования микробиологических процессов в сырах.

10.3. Способы посолки сыров. Влияние соли на микрофлору

Сыры являются динамичной структурой: $A_в$ в них по ходу технологического процесса постоянно изменяется. Во время созревания активность воды в сыре постепенно снижается за счет усушки, расщепления компонентов молока, в частности казеина, с образованием соединений, обладающих значительно более высокой водосвязывающей способностью, чем исходный субстрат. Меняется состав и функции микрофлоры. Главными функциями микрофлоры заквасок во время выработки и на первых этапах созревания являются сбраживание лактозы и накопление биомассы как источника энзимов, ведущих последующее созревание сыра. Эти функции она выполняет, пока в сырах присутствуют углеводы. В этот период ингибирование роста микрофлоры закваски любыми факторами, например, интенсивной посолкой зерна, наносит сыру ущерб, пропорциональный степени ингибирования.

На втором этапе микрофлора закваски не размножается, клетки ее постепенно лизируются с высвобождением внутриклеточных энзимов, принимающих участие в созревании сыра. Чем быстрее будут лизироваться микробные клетки, тем интенсивнее пойдет созревание сыра. В связи с этим соль на втором этапе может играть положительную роль как катализатор лизиса микробных клеток и, главное, как регулятор энзиматических процессов. Кроме этого, на всем протяжении созревания в сырах могут размножаться пропионовокислые и маслянокислые бактерии, рост которых в значительной степени зависит от С/В.

Большинство посторонних бактерий размножаются в сырах, пока есть углеводы, и в этот период ингибирование их размножения оказывает большое положительное влияние на качество сыра, но только если ингибирующий фактор не оказывает отрицательного влияния на микрофлору закваски. Соль не может быть использована для этой цели, так как посторонняя микрофлора более устойчива к соли, чем микрофлора закваски. После сбраживания лактозы соль может влиять на скорость отмирания патогенных бактерий, что имеет большое значение в профилактике токсикоинфекций, обусловливаемых поглощением с сырами живых клеток патогенных бактерий.

По содержанию поваренной соли сыры можно разбить на три группы:

- кисломолочные и твердые сыры с высокой температурой II нагревания, вырабатываемые за границей, содержание соли в которых находится в интервале от 0,2 до 1,0% (содержание Na 0,08–0,40%);
- твердые сыры со средней и низкой температурой II нагревания, твердые сыры с высокой температурой II нагревания российской выработки, полутвердые и мягкие сыры с содержанием соли от 1,2 до 3,0%, преимущественно 1,5–2,0% (содержание Na 0,6–0,8%);
- рассольные сыры, Рокфор с содержанием соли от 3 до 8% (содержание Na до 3,2%).

Содержание соли в сырах в большой степени варьирует в зависимости от района выработки, что, в свою очередь, является отражением традиций в питании населения, которые складывались веками. Обычно сыры с высоким содержанием соли вырабатывают в районах, где ранее вырабатывались преимущественно рассольные сыры (Балканские страны, Кавказ, Египет и др.); в Европе, Северной Америке предпочитают сыры с низким содержанием соли. В Египте, например, вырабатывают сыр Миш (Mish) со средним содержанием соли 12%. Порог ощущения соли в сыре Эдам равняется 1,14 г или 450 мг Na на 100 г [135]. В Германии нормативными документами предусмотрено содержание 1,2% соли в сыре Эдам [1160].

В настоящее время развернута кампания по снижению содержания соли в пищевых продуктах в соответствии с требованиями гигиены питания (гл. 13). Не обошла она и производство сыра, хотя хороший сыр с низким содержанием соли выработать трудно, поскольку соль оказывает сильное ингибирующее действие на маслянокислые бактерии и снижает вероятность появления горького вкуса. Показано, однако, что, снижая продолжительность посолки в рассоле до 6 ч, можно выработать из молока, не содержащего спор маслянокислых бактерий, Эдамский сыр с 450 мг Na на 100 г и хорошими органолептическими показателями [135]. Замена в нем натрия калием, рекомендуемая медициной, привела к появлению сильной горечи. Prokopek et al. проводили созревание малосольных сыров при 8° С, что предотвращало в них развитие маслянокислых бактерий [846].

Снижение степени посолки сыров, в производстве которых принимают участие пропионовокислые бактерии, интенсифицирует формирование и усиливает выраженность специфических для этого класса сыров вкуса и аромата, но повышает опасность вспучивания сыра маслянокислыми бактериями.

10.3.1. Посолка молока

Способы посолки сыров можно разделить на объемные, которые сразу обеспечивают достаточно равномерное распределение соли в сырной массе, и поверхностные, в которых соль медленно диффундирует вглубь головки сыра во время его созревания.

При производстве некоторых рассольных сыров соль вносят в молоко. Например, рассольный сыр Домиати в Египте вырабатывают из молока, в которое перед свертыванием добавляют 8–15% NaCl [2]. Такой способ обеспечивает равномерное распределение соли в сырной массе сразу после выработки сыра, затраты труда на посолку в этом случае минимальны. Однако в таком молоке лактококковая закваска работать не будет. Из соленого молока (9–12% соли) после 4–21 ч инкубации при 30° С было выделено 145 штаммов лактобактерий, большинство которых составили солеустойчивые лактобациллы (*Lbc. plantarum*, *Lbc. casei*, *Lbc. cellobiosis*, *Lbc. brevis*) и, кроме них, 10 штаммов *Leuc. paramesenteroides*, 3 штамма педиококков [276]. Снижение содержания соли в молоке до 6,5%, пастеризация молока, внесение в пастеризованное молоко солеустойчивых палочек и педиококков несколько повысило качество сыра Домиати. Скорость сбраживания лактозы снижалась, а содержание влаги в сыре повышалось при увеличении количества добавляемой к молоку соли [2]. Некоторые опасные для сыроделия микроорганизмы, например, стафилококки, иерсинии, листерии, устойчивы к высоким концентрациям соли, и снижение скорости сбраживания лактозы при выработке сыра из соленого молока создает благоприятные условия для их размножения. При выработке сыра из сырого молока развитие БГКП было подавлено только добавлением 9,5% соли в молоко [1112]. В сыре, выработанном из молока с добавлением 4% NaCl, стафилококки образовывали токсин даже при достаточно низких температурах созревания [956]. Исследование 40 проб сыра Домиати выявило золотистый стафилококк в 19 пробах в количестве от тысяч до миллионов в 1 г [424].

Добавление в пастеризованное молоко 7,5–10% NaCl увеличивает время сычужного свертывания, снижает скорость синерезиса и прочность сычужного сгустка [373, 822]. Сыворотка с высоким содержанием соли не подлежит промышленной переработке, что также делает этот способ невыгодным. И наконец, высокая доза соли противоречит требованиям гигиены питания. В связи с этим этот способ посолки не может быть рекомендован для использования в России.

10.3.2. Полная посолка в зерне

К объемному типу посолки можно отнести полную посолку сыра в зерне, одно время достаточно широко применяемую в производстве Российского сыра вопреки рекомендациям ВНИИМС. Суть полной посолки в зерне заключается в том, что во время II нагревания из сырной ванны удаляют (25±5)% сыворотки, что вместе с ранее удаленной после постановки зерна сывороткой составляет (60±5)% от объема перерабатываемого молока, добавляют вместо удаленной сыворотки рассол с таким расчетом, чтобы концентрация соли в готовом сыре соответствовала установленным требованиям к зрелому сыру, смесь вымешивают (20±5) мин для просаливания зерна и приступают к отделению сыворотки и формованию сыра. От посолки молока этот способ отличается тем, что посолку

проводят после свертывания молока в конце обработки зерна, когда часть лактозы уже сброжена лактококками закваски. Преимущества этого способа: соль сразу же равномерно распределяется по всей массе сыра, что обусловливает равномерное его созревание в пределах головки, отсутствие потребности в солильных бассейнах, сокращение затрат труда и времени на посолку сыра, лучшие возможности для механизации производства. Подразумевалось также, что соль, сразу же после выработки равномерно распространившаяся по всей массе сыра, окажет ингибирующее действие на развитие посторонней микрофлоры.

Однако ко времени посолки сыра в зерне молочнокислый процесс далеко не закончился и внесение в этот момент в зерно достаточно высоких доз соли приводит к его торможению, что показано на сыре Свесия – шведском прототипе Российского сыра (табл. 10.2) [773]. Результаты этого опыта показывают, что полная посолка в зерне (Российский сыр содержит 1,5–1,8% соли, или 3,8–4,3% в водной фазе) существенно тормозит сбраживание молочного сахара и кислотообразование. Это торможение не ликвидировать даже трехкратным увеличением дозы закваски.

***10.2. Содержание лактозы и pH в сыре Свесия через сутки после прессования в зависимости от степени посолки в зерне и дозы закваски* [773]**

Содержание соли, %	Количество бактериальной закваски, %					
	0,5	1,0	1,5	0,5	1,0	1,5
	Содержание лактозы, мг/г			pH		
0,63	1,2	0,3	0,4	5,2	5,1	5,1
1,25	6,6	4,3	3,9	5,6	5,4	5,3
1,86	11,8	11,4	7,7	6,0	5,9	5,7

Подобные результаты получены в опытах с различным уровнем посолки Чеддера (рис. 10.2) [621]. Ингибирование кислотообразования началось после увеличения С/В до 5% и нарастание кислотности полностью прекратилось при 7% С/В, хотя в сыре после посолки остается около 0,6% лактозы, которая при дальнейшем созревании сыра будет сброжена незаквасочной микрофлорой.

Сыры Свесия и Чеддер в предыдущих опытах вырабатывали на западных закваскаx, в которых доминирующее положение занимает *Lc. cremoris* – наиболее чувствительный из лактококков к соли.

Однако при выработке Российского сыра на угличских закваскаx, в которых доминирует *Lc. lactis*, в сырах с полной посолкой в зерне также наблюдается ингибирование молочнокислого брожения. Диланян и Доильницин вырабатывали Российский сыр с внесением в зерно 1300 или 700 г соли/100 кг смеси: первая доза соответствовала полной посолке сыра в зерне, вторая была почти вдвое ниже, чем нужно для полной посолки в зерне [1346]. После внесения соли в смесь зерна и сыворотки содержа-

ние молочнокислых бактерий в зерне в первом и втором вариантах снизилось в 2 и 1,4 раза по сравнению с контрольным сыром, который не солили в зерне. Различия между вариантами сохранялись на протяжении 10 суток.

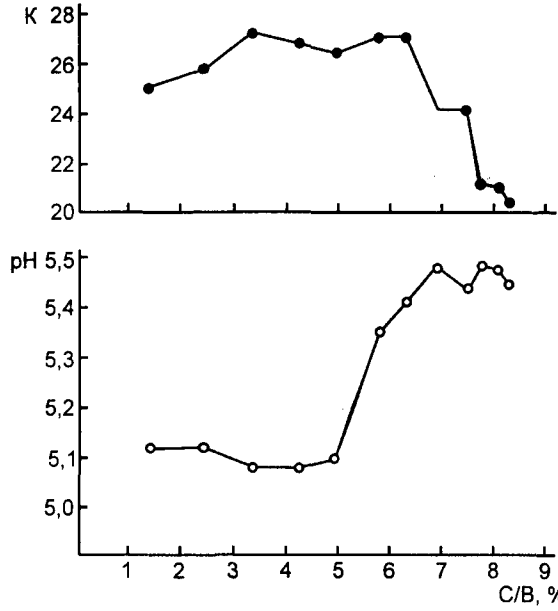


Рис. 10.2. *Корреляция между содержанием соли в водной фазе (С/В, %), pH 8-недельных сыров и их балловой оценкой (К) (макс. 30 баллов).*
Сыры брали из одной и той же ванны, но солили до разных уровней

Несмотря на существенное ингибирование молочнокислого процесса в Российском сыре с полной посолкой в зерне, авторы работы рекомендовали ее для широкого использования, опираясь на стандартность опытных сыров по органолептическим показателям. Выработки сыра ими проводились при минимальных загрязнениях посторонней микрофлорой, что не всегда можно обеспечить на практике. Снижение активности молочнокислого брожения в сырах с высоким уровнем посолки в зерне должно стимулировать развитие солеустойчивой микрофлоры, в частности стафилококков, о чем свидетельствуют результаты опыта, представленные на рис. 6.6 и 10.3 [1297]. Сыры (рис. 6.6) вырабатывали с содержанием С/В 1,6; 2,9 и 3,9%. В питательных средах 1,6% соли не оказывает ингибиторного действия на развитие микрофлоры мезофильных заквасок, 2,9% оказывает умеренное и 3,9% – сильное ингибирующее действие на

рост. 3,9% соли в водной фазе соответствует около 1,7% соли в зрелом сыре, т. е. полной посолке Российского сыра в зерне. Этот уровень посолки в зерне привел к в повышению pH сыра после прессования примерно на 0,3 ед. и увеличил содержание стафилококков примерно в 8 раз по сравнению с умеренной посолкой в зерне. В результате этих опытов полная посолка в зерне Российского сыра была запрещена.

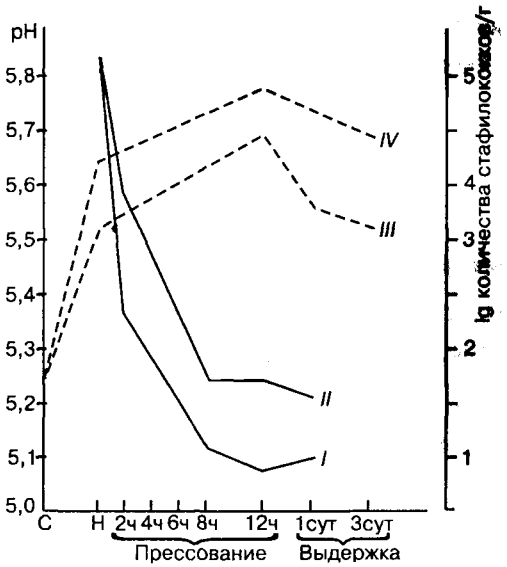


Рис. 10.3. *Влияние степени посолки Российского сыра в зерне на накопление биомассы стафилококков и pH:*
I, III – частичная посолка в зерне; II, IV полная посолка в зерне; III, IV – lg кол-ва стафилококков/г; I, II – pH; C – смесь после внесения стафилококков; H – начало прессования [1297]

Полная посолка в зерне испытана при выработке сыра Гауда; она не только не подавила развитие колиформ, но содействовала раннему вспучиванию сыра, что можно объяснить ингибированием солью развития микрофлоры закваски при отсутствии ингибирования БГКП [665].

Для того чтобы нивелировать ингибиторное действие полной посолки в зерне на развитие микрофлоры закваски, австралийские ученые предложили добавлять 1,5% NaCl в молоко и 1,5% закваски в зерно [49]. Влияние этого метода на показатели безопасности сыра не исследовано.

10.3.3. Посолка сыра Чеддер

К объемным относится метод посолки Чеддера и других сыров его группы, заключающийся в том, что после обработки зерна и чеддериза-

ции, во время которой большая часть лактозы сбраживается, сырный пласт размельчают, солят и направляют на формование с последующим прессованием. В этом случае посолку производят, когда в сырной массе остается около 0,6% молочного сахара и соль уже можно использовать как фактор подавления посторонней микрофлоры, не особенно опасаясь подавить развитие микрофлоры закваски. Непосредственно после посолки С/В в Чеддере достигает 4,5% [622]. Чеддер мог бы стать самым безопасным видом твердых сычужных сыров, если бы во время чеддеризации молочнокислый процесс всегда шел с нужной скоростью. При снижении активности молочнокислого брожения, когда в сыре после посолки остается значительное количество несброженной лактозы, Чеддер становится наиболее опасным сыром, поскольку при содержании в водной фазе сыра больше 5% соли – оптимальной концентрации для этого сыра – начинается мощное ингибирующее действие соли на рост микрофлоры закваски (рис. 10.2) и создаются благоприятные условия для развития солеустойчивой посторонней микрофлоры.

10.3.4. Посолка в рассоле

Наиболее распространенным способом посолки сычужных сыров является их выдержка в течение нескольких дней в рассоле – 18–23% растворе соли. Во время этой выдержки соль проникает в поверхностные слои головки сыра и впоследствии во время созревания медленно диффундирует вглубь головки. Таким образом, в период сбраживания лактозы соль ингибирует развитие микрофлоры закваски только в поверхностном слое, а в центральные слои она проникает через несколько недель, когда необходимая микрофлора, за исключением пропионовокислых бактерий в крупных сырах, закончила свое развитие. Во время выдержки в рассоле не только обеспечивается требуемое содержание соли в сыре, но также происходит охлаждение сырной массы до температуры меньше 15° С, что очень важно с точки зрения подавления или максимально возможного ограничения развития посторонней микрофлоры (микрофлоре закваски при нормальном ходе микробиологических процессов это не приносит вреда, так как она к окончанию посолки практически прекращает развитие). Кроме этого, соль, насыщая поверхностный слой, придает определенную жесткость головкам сыра.

Для мелких сычужных сыров оптимальное содержание соли 1,5–2,0%, или 3,7–4,7% в водной фазе, максимальное – до 3,0% (до 7,56%) [396]. В ранее вырабатываемом Голландском сыре «со слезой» содержание соли равнялось 2,8–3,5% при содержании влаги 42–44% [1438]. Сыр Эмменталь «со слезой» можно получить при созревании в сухом сырохранилище (относительная влажность 75%) в течение 6 месяцев и более [1137]. В крупных сырах с высокой температурой II нагревания, вырабатываемых в Швейцарии (Эмменталь, Грюйер, Аппенцеллер), содержание соли составляет 0,44–1,62%, или 1,2–4,3% в водной фазе [1025]; в России – 1,2–2,0%, или 3,2–5,3% в водной фазе [396]; в итальянских терочных

сырах Пармезан и Грана 1,4–1,7%, или 4,4–5,0% в водной фазе [57]. Снижение продолжительности посолки в рассоле Швейцарского сыра с 10 до 5 суток повысило содержание в нем влаги с 34–36% до 36–41%, увеличило содержание молочнокислых и пропионовокислых бактерий, скорость протеолиза и повысило общую оценку сыра на 6,4 балла [1533]. К сожалению, низкий уровень посолки крупных сыров возможен только при отсутствии в молоке спор маслянокислых бактерий.

При посолке в рассоле мелких сыров высокие дозы соли для развития микрофлоры заквасок неопасны, так как соль проникает в основную массу сыра после окончания сбраживания лактозы. Это не значит, что интенсивная посолка не приносит вреда качеству сыра, так как соль влияет на протеолиз и непосредственно на вкус и консистенцию продукта. Иное положение в производстве крупных сыров. К тому времени, когда соль дойдет до центральных слоев головки, в этих сырах начинают размножаться пропионовокислые бактерии, чувствительные к соли. Пропионовокислое брожение – необходимый фактор формирования органолептических показателей сыров с высокими температурами II нагревания, созревающих длительное время, и поэтому крупные сыры должны солиться так, чтобы обеспечить нормальный рост пропионовокислых бактерий. Поэтому во второй половине созревания крупных сыров в них начинают размножаться маслянокислые бактерии – возбудители позднего вспучивания и других пороков, делающих сыр непригодным для использования в пищевых целях. Чем ниже содержание соли в сыре, тем быстрее размножаются маслянокислые бактерии и выше опасность порчи сыра. Если мы хотим получить крупный сыр с хорошо выраженными специфическими органолептическими показателями, то концентрация соли в нем должна быть ниже 1%. Такой сыр можно без потерь из-за маслянокислого брожения вырабатывать из молока, содержащего менее одной споры/мл лактатферментирующих клостридий. Следует отметить, что в сырах с высокими температурами II нагревания слишком интенсивное развитие пропионовокислых бактерий также может вызвать позднее вспучивание без ухудшения других органолептических показателей.

При температуре 24° С (температура бродильной камеры), pH 5,5 и длительной инкубации максимальная концентрация соли, при которой происходит рост *Cl. tyrobutyricum* в лактатном бульоне, равна 5,6% [853]. Это означает, что для подавления роста *Cl. tyrobutyricum* в крупных сырах к моменту перемещения сыра в бродильную камеру содержание в них соли в водной фазе должно быть около 5,6%, т. е. около 2,25% в сыре.

Нидерландские ученые считают, что риск маслянокислого брожения в сыре Гауда резко повышается в сырах с содержанием соли в сухом веществе сыра ниже 3,8% [72], что при содержании сухих веществ в сыре около 60% соответствует данным венгерских ученых. Карликанова и А. Гудков считают, что маслянокислое брожение в мелких сырах может быть полностью подавлено при содержании соли в сыре, равном 2,5%, что соответствует примерно 6% в водной фазе [1410]. Это близко к ре-

зультатам венгерских ученых [853] и не противоречит результатам опытов Kleter et al., в которых 4,5% соли в водной фазе сыра Гауда замедлили, но не подавили развитие маслянокислых бактерий [563].

Однако такие концентрации соли в крупных сырах недопустимы, так как они подавляют развитие пропионовокислых бактерий. Повышение содержания соли в Советском сыре с 1,23 до 2,03% снизило содержание в нем пропионовокислых бактерий примерно в 9 раз – до уровня, недостаточного для придания сыру типичного вкуса [1556]. В крупных сырах с 2% NaCl (около 5% в водной фазе) рисунок часто вообще отсутствует. Следует, однако, отметить, что чувствительность к соли варьирует среди штаммов и видов пропионовокислых бактерий в широких пределах. В частности, выделены штаммы пропионовокислых бактерий, сохраняющие активную жизнедеятельность в среде с содержанием 4,5% соли, которые могут быть использованы для выработки крупных сыров с содержанием соли около 2% [1195]. Чувствительность пропионовокислых бактерий к соли зависит от pH среды: в лактатной среде рост быстро растущих штаммов пропионовокислых бактерий при pH 6,5 прекращался при 6% соли в среде, при pH 5,2 – при 3% [904].

10.3.5. Частичная посолка в зерне

В настоящее время чаще всего применяют комбинированную посолку: в зерне до уровня, не оказывающего ингибиторного действия на рост микрофлоры закваски, с досаливанием в рассоле. Доза NaCl, допускаемая для внесения в зерно, для сыров с низкими температурами II нагревания, составляет 200–300 г/100 кг молока, для сыров типа Российского – 500–600 г/100 кг. При комбинированной посолке принято в расчет, что газообразование диацетильным стрептококком подавляется при снижении $A_в$ раньше, чем рост, и поэтому степень посолки в зерне ниже для сыров с правильным рисунком по сравнению с сырами типа Российского с пустотным рисунком, образование которого не связано с жизнедеятельностью микрофлоры сыра [665]. Обе дозы не снижают скорость кислотообразования при выработке сыра. По Раманаускасу, внесение в смесь до 0,7–0,8% соли от количества смеси не ингибирует молочнокислое брожение [1606]. Пясяцкас и Нарваилене считают, что при производстве сыра Атлет доза соли, вносимая в зерно, не должна превышать 600 г/100 кг (0,6% соли и 42,2–43,6% влаги в сыре после прессования), так как более высокие дозы соли вызывают появление трещин на верхнем полотне головки [1596].

Ингибирующее действие частичной посолки в зерне на БГКП в мелких сырах проявилось только при увеличении дозы вносимой соли свыше 1200 г/100 кг смеси, что намного превышает установленную норму. БГКП более устойчивы к соли (минимальная $A_в$ = 0,932) (гл. 6), чем лактококки, размножаются эти микроорганизмы в сыре в одно и то же время с размножением микрофлоры закваски, поэтому соль не может быть использована для подавления развития энтеробактерий в сыре.

Внесение соли в сгусток в дозах, недостаточных для подавления вегетативного роста маслянокислых бактерий, все же оказывает определенное ингибиторное действие на их развитие, что может быть обусловлено действием соли на уже проросшие, но еще не начавшие вегетативный рост споры маслянокислых бактерий [1014]. В этот период развития маслянокислые бактерии обладают максимальной чувствительностью к внешним факторам. На превращение спор маслянокислых бактерий в вегетативные клетки уже 1% NaCl в среде оказывает ингибиторное действие.

При посолке в рассоле 3,8% соли в водной фазе подавили развитие маслянокислых бактерий в сыре Овари (сыр с пустотным рисунком типа Российского), сыры Трапист вспучились в 24-суточном возрасте даже при содержании 5,7% соли в водной фазе; при частичной посолке в зерне сыры Трапист вспухли при содержании в водной фазе не более 2,77% соли [852].

Частичная посолка в зерне не может быть использована для предотвращения развития *List. monocytogenes*, так как листерии более устойчивы к соли, чем микрофлора заквасок.

Частичная посолка в зерне увеличивает влагоудерживающую способность сырной массы (табл. 10.3) [1436, 1606, 1633]. Кроме этого, при частичной посолке в зерне сокращается время выдержки сыра в рассоле, что также уменьшает потери влаги. Это улучшает консистенцию и повышает выход сыра, но требует разбавления сыворотки водой для предотвращения излишнего нарастания кислотности в сыре. При отсутствии этого мелкие сыры с добавлением в зерно 600 г соли/100 кг были кислыми и имели щелевидный рисунок.

***10.3. Влияние частичной посолки в зерне на содержание соли и влаги в мелких сычужных сырах* [1436]**

Количество NaCl, внесенной в зерно, г на 100 кг молока	Содержание влаги, %			Содержание NaCl, %		
	Зерно	Сыр		Зерно	Сыр	
	после обраб.	после прессов	зрелый	после обраб.	после прессов.	зрелый
0	55,3	41,4	36,9	–	–	1,81
300,0	56,1	43,6	40,0	0,33	0,22	1,97
1200,0		45,3	42,1	0,98	0,66	2,03

10.3.6. Посолка сухой солью и инъекционными способами

У наиболее распространенных способов посолки сыра имеется крупный недостаток – при их использовании вся или большая часть сыворотки оказывается соленой, что мешает ее промышленной переработке и наносит большой экономический ущерб производству. Для устранения этого недостатка некоторые сыры солят путем натирания поверхности сухой солью. При этом соль медленнее проникает внутрь сыра,

потому что до начала диффузии соли на поверхности должен образоваться солевой раствор за счет миграции воды из сырной массы под действием осмотического давления. Поверхность сыра находится в контакте с пересыщенным раствором соли несколько дней, что приводит к сжатию и обезвоживанию поверхностного слоя и замедляет диффузию соли в сырную массу по сравнению с посолкой в рассоле.

Замена посолки Адыгейского сыра сухой солью посолкой горячей сывороткой после осаждения сырной массы с 5-минутной выдержкой обеспечило равномерное распределение соли в головке и снизило затраты ручного труда [1668].

Разработаны методы посолки сыров путем инъекции рассола в сформованный сыр во время или после прессования [1366, 1522]. Суть этих методов состоит в том, что соль вносится в уже сформованный сыр через полые иглы, которые погружают в сырную массу [1366], или путем орошения головки рассолом под давлением, создаваемым с помощью форсунок [1522]. Эти методы ускоряют проникновение соли во внутренние слои сыра и исключают получение соленой сыворотки. К сожалению, пока они не получили промышленного применения.

10.4. Абсорбция соли сыром и ее диффузия в сырной массе

Для получения сыра однородного качества в пределах головки важно возможно более быстрое и равномерное распределение соли в сырной массе, поскольку микробиологические, физические и биохимические процессы, обусловливающие формирование органолептических показателей сыра, в большой степени зависят от содержания С/В в каждой конкретной точке.

После погружения головок сыра в рассол соль начинает проникать из рассола в сыр, а влага перемещаться из сыра в рассол, для того чтобы уравновесить осмотическое давление в сырной массе и рассоле. Скорость проникновения соли в сырную массу очень низкая: среднее значение коэффициента диффузии соли в сыр (D) равно 0,2 $см^2$/день (от 0,1 до 0,3 $см^2$/день) [401, 354], по другим данным – 0,126 $см^2$/день [622]. Для сравнения укажем, что D для соли в чистой воде при 12,5° С равен 1 $см^2$ в день [401]. Низкая скорость диффузии соли в сыре обусловлена необходимостью преодоления многочисленных сопротивлений, например, жировых шариков, сил трения при прохождении через узкие поры казеиновой матрицы. Близкие значения коэффициента диффузии NaCl в сырах Чеддер, Гауда при одинаковом содержании влаги свидетельствуют об одинаковой структуре их казеиновой матрицы [622]. Морозова на примере сыра Горный показала, что D в процессе созревания сыра быстро снижается из-за увеличения сил сопротивления перемещению соли [1528].

Более или менее равномерное распределение абсорбированной поверхностными слоями соли внутри головки, в зависимости от вида сыра, занимает от 10–12 дней (Лимбургский сыр), 6–12 недель для мелких сы-

ров, до 10 месяцев для Пармезана [828]. В Советском сыре разница между содержанием соли в наружных и центральных слоях сыра сохраняется до 3-месячного возраста. Даже в Чеддере, где сырную массу перед посолкой измельчают до размеров 2×2 см, сохраняются различия между С/В в центре и на поверхности кусочков на протяжении 72 ч [401].

Абсорбция соли сыром зависит от свойств рассола и сыра, в частности от влажности сыра, концентрации соли в рассоле, формы и размеров головки, времени выдержки в рассоле, температуры рассола [160].

Коэффициент диффузии и количество абсорбированной мелкими сырами соли увеличиваются с увеличением содержания в них влаги. В Голландском брусковом сыре с содержанием влаги после прессования 44,7 и 46,6% при одинаковой продолжительности выдержки в рассоле содержание соли во втором сыре было на 0,54% выше, чем в первом [1484]. По-видимому, это обусловлено снижением доли казеиновой фракции и увеличением диаметра пор в казеиновой матрице в сырах с высоким содержанием влаги. При посолке сухой солью из сыров с высокой исходной влажностью соль «вытягивает» значительно больше влаги, что приводит к снижению количества NaCl, удерживаемой сыром.

Соль в головке сыра находится в водной фазе, поэтому чем выше в сыре содержание влаги, тем быстрее пойдет диффузия соли. Однако это не означает, что скорость диффузии соли в сырах одного и того же вида и с одинаковым содержанием влаги будет идентичной, так как величина коэффициента диффузии зависит также от отношения содержания жира и отношения содержания влаги к содержанию сухих обезжиренных веществ [354]. Так, в сыре Гауда с 50% влаги, 11 и 26% жира значения D* (так называемый «псевдо-диффузионный коэффициент», введенный Geurts et al.) равнялись соответственно 0,15 и 0,25 $см^2$/день [354]. Увеличение содержания жира в сухом веществе при снижении содержания сухих обезжиренных веществ увеличивает D* за счет расширения пор в казеиновой матрице, средняя относительная ширина сечения которых в предыдущем опыте составила 0,17 и 0,35 соответственно.

В отношении концентрации соли в рассоле мнения специалистов неоднозначны. Господствующей точкой зрения является то, что степень абсорбции соли сыром увеличивается при возрастании ее концентрации в рассоле, что вполне логично, так как увеличение концентрации соли в рассоле при постоянной влажности сыра повышает градиент концентрации. Однако степень увеличения количества абсорбированной сыром соли при повышении ее концентрации в рассоле быстро снижается. По-видимому, при слишком высокой концентрации соли в рассоле происходит быстрое обезвоживание коркового слоя, что затрудняет диффузию соли, поэтому некоторые авторы считают, что лучше проводить посолку рассолом с концентрацией соли 18–19% [1147, 1192]. Более низкая концентрация соли в рассоле приводит к размножению в нем солеустойчивых лактобацилл, которые могут проникать в сыр и вызывать дефекты вкуса и консистенции.

На последующую диффузию абсорбированной соли в сыре концентрация соли в рассоле в интервале от 5 до 20% не оказывает влияния

[354]. Частичная посолка в зерне не влияет на глубину проникновения соли при последующей посолке в рассоле.

Скорость абсорбции NaCl увеличивается при увеличении отношения поверхности к объему просаливаемых частиц сгустка, в частности головок сыра. Кроме размеров головки на скорость диффузии соли влияет их форма: чем сильнее искривлена поверхность головки, тем меньше эффективных направлений для диффузии соли, тем ниже будет скорость диффузии. По скорости абсорбции соли при одинаковой массе головок сыры располагаются следующим образом: брусок > цилиндр > сфера [401]. На рис. 10.4 показано поглощение соли итальянскими сырами из овечьего молока (типа Романо) в зависимости от формы головки [400].

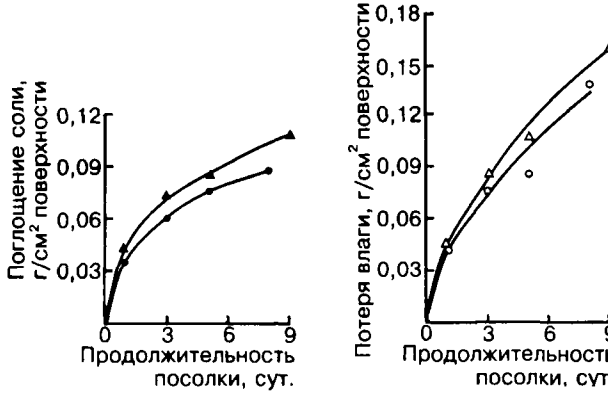


Рис. 10.4. *Влияние формы сыра на поглощение соли (●▲) и потерю влаги (○△) мелкими сырами в рассоле с 19,5% NaCl при 23 °С (▲,△ – сыры в форме бруска; ●, ○ – цилиндрические сыры)*

Количество абсорбированной сыром соли увеличивается с увеличением продолжительности посолки, но скорость абсорбции со временем снижается, что обусловлено уменьшением градиента между концентрацией соли в рассоле и сыре [401, 1528]. Количество абсорбированной сыром соли через плоскую поверхность за время t (M_t, г NaCl/см^2) можно вычислить по уравнению [355]:

$$M_t = 2(C - C_0)\,(D^* t/\pi)^{1/2}\,V_w\,, \qquad (10.4)$$

где C – концентрация соли в рассоле, г/мл; C_0 – исходная концентрация соли в сыре, г/г; t – продолжительность выдержки в рассоле, дней; D^* – псевдодиффузионный коэффициент, см^2/день; V_w – среднее содержание влаги в сыре за время t, г/г.

Для искривленной поверхности M_t ниже, чем вычисленное по формуле.

Температура рассола и сгустка влияют на абсорбцию соли: в интервале температуры от 26,7° С до 43,3° С количество абсорбированной соли

пропорционально температуре. Исключением является нагревание сыра до 32° С перед посолкой, в результате которого количество абсорбированной соли снижается по сравнению с абсорбцией при более низкой или высокой температурах. Это обусловлено выделением жира на поверхности сыра при 32° С. При температурах меньше 32° С выделяется меньше жира, при более высоких температурах жир диспергируется в рассоле.

Скорости миграции NaCl и H_2O в головке сыра увеличиваются с увеличением температуры рассола и сыра; при температуре рассола в пределах от 5 до 25° С коэффициент диффузии увеличивается примерно на 0,008 $см^2$/день/°С (для сыров класса Гауда) [354]. Чем выше температура сыра, тем быстрее соль равномерно распределяется в головке сыра.

При низкой титруемой кислотности сыр абсорбирует больше соли, что обусловлено более высоким содержанием в нем влаги [620]. В сырах Чеддер с высокой кислотностью во время прессования теряется больше сыворотки, с которой из сырной массы уходит часть соли.

Влияние различных факторов на абсорбцию соли и потерю влаги во время посолки сыра голландского типа с низкой температурой II нагревания со сферической формой головки показано на рис. 10.5. Количество абсорбированной мелкими сырами соли во время нахождения в рассоле равняется 1–3%, количество теряемой влаги составляет 2–6%, потери сухих веществ без соли колеблются от 1 до 3 г/кг, следовательно, вес сыра после посолки будет снижаться [1147].

Посолка сыров происходит в период бурного развития микрофлоры сыра, что необходимо учитывать при выборе ее режима, для того чтобы не подавить развитие необходимой и не интенсифицировать рост вредной микрофлоры.

10.5. Рассол для посолки сыров

Показатели рассола для посолки крупных сыров: содержание соли – 20–23%, pH 5,15–5,25, титруемая кислотность 10–16° SH (25–40° T), температура 10–16° С, в нем должны отсутствовать тяжелые металлы [791]. В свежеприготовленном рассоле pH равен 7,0–8,0, поэтому его следует довести до оптимального уровня добавлением кислоты или сыворотки [744]. При более низкой кислотности получается слишком сухой сыр, склонный к жировыделению и растрескиванию, при более высокой – слишком влажный сыр с мажущейся консистенцией, также склонный к растрескиванию. Загрязнение рассола тяжелыми металлами способствует образованию трещин на поверхности сыров. Микробиологические показатели: общее число бактерий $5 \cdot 10^4$–$2{,}4 \cdot 10^6$, содержание микрококков/стафилококков (130–4200)/(1–18)·10^6; дрожжей и плесеней (370–24000)/(7700–22000) в 1 г. По данным ВНИИМС (Климовский, Алексеев и Табачников, 1966), повышение температуры рассола с 10–12° С до 16–18° С в 5–25 раз увеличило содержание в сырах БГКП, в 10 раз – лактобацилл, а также количество сыров с пороками: горький, кислый, не-

чистый вкус, самокол и щелевидный рисунок. Снижение температуры рассола до 5–6° С в значительной степени ингибирует развитие маслянокислых бактерий, но снижает выраженность сырного вкуса. При выработке сыров из молока, содержащего споры маслянокислых бактерий, качество сыра было выше при посолке при 5–6° С, в отсутствие спор – при температуре 10–12° С. По нидерландскому стандарту в рассоле должно быть не более 5000 солеустойчивых лактобацилл, газообразующих бактерий – не более 1000 КОЕ/мл [784].

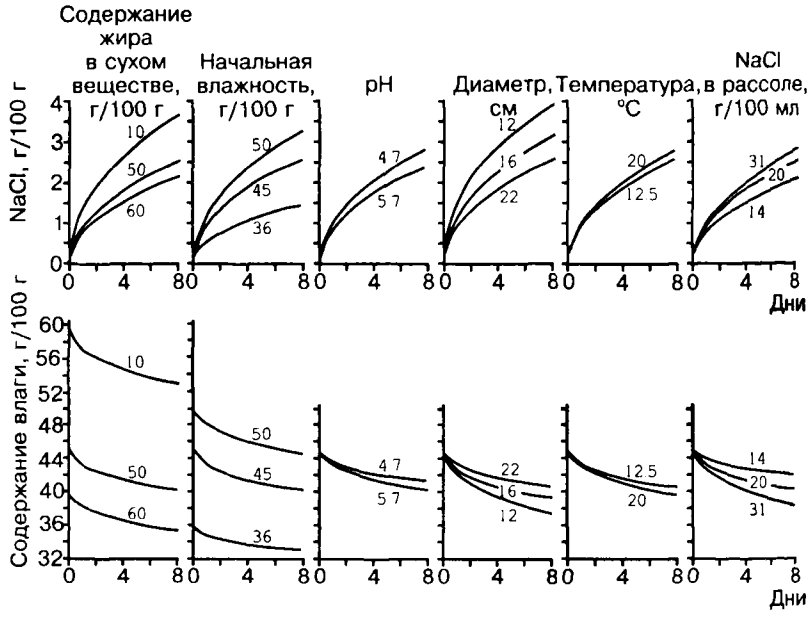


Рис. 10.5. *Поглощение соли и содержание влаги в сыре (сферические головки) как функция продолжительности посолки.*
При отсутствии указаний на графиках содержание жира в сухом веществе равно 50%, содержание влаги – 45%, диаметр головок – 22 см, pH сыра и рассола – 5,0, содержание соли в рассоле – 20 г/100 мл, температура – 12,5 °С [355]

По мнению Walstra et al., pH рассола должен быть равным 4,5 и в рассоле должно быть 0,3% Ca для того, чтобы не растворялся белок и не происходило размягчение корки [1147]. Чем выше содержание Ca, тем ниже степень солюбилизации мицелл казеина под воздействием соли [194].

Для дезинфекции рассола можно использовать 3 л 30 %-ного раствора H_2O_2 на 1000 л или раствор гипохлорита с содержанием активного хлора 12–15% в дозе 50 л на 1000 л. Нагревание рассола до 95–100° С в

теплообменнике, поверхность которого для предотвращения коррозии была покрыта стеклом, снизило общее содержание бактерий в рассоле до 800/мл [951]. После тепловой обработки проводят нейтрализацию рассола.

Обеззараживание рассола можно проводить с помощью ультрафильтрации с применением мембран при температурах, близких к максимальным для применяемой мембраны [1417]. При ультрафильтрации в рассоле снижется содержание Ca, P, K и Mg на 25, 25, 16 и 11% соответственно, что существенно улучшает его качество [181]. Можно использовать мембранные фильтры непрерывного действия для обеззараживания рассола [447].

При повседневном контроле Tschager рекомендует определять плотность рассола в градусах Baume, титруемую кислотность, памятуя при этом об увеличении буферности рассола с возрастом, содержание Ca, количество БГКП, дрожжей и плесеней, периодически определять содержание соли [1106].

В процессе посолки сыры теряют влагу, что приводит к снижению концентрации рассола. Zoon et al. предлагают удалять избыток влаги выпариванием, добавлять NaOH для осаждения фосфата Ca, который затем можно удалить ультрафильтрацией [1183].

10.6. Влияние соли на химические и органолептические показатели

Протеолитическая активность химозина и пепсинов по отношению к α_{s1}-казеину возрастает при увеличении концентрации соли до 5%, затем снижается, но сохраняется даже при 20% NaCl; по отношению к β-казеину она ингибируется сильно при 5% и полностью при 10% NaCl [401]. Ингибиторное действие соли на протеолиз связано с конформационными изменениями казеинов и зависит от pH.

Протеолиз значительно интенсивнее идет в несоленом сыре, чем в соленом. В месячном сыре Чеддер существуют линейные отношения между расщеплением α_{s1}- и β-казеинов, с одной стороны, и С/В, с другой [1091]. α_{s1}-Казеин полностью расщепляется во время созревания сыра, в то время как β-казеин гидролизуется только частично под действием бактериальных протеиназ. Расщепление β-казеина идет при низком уровне С/В. «Горькие» штаммы *Lc. cremoris* образовывали горькие пептиды в присутствии химозина и 4% соли только из β-казеина [1137]. Для предотвращения появления горечи в сыре С/В должна быть больше 4,9% [620]. Образование горьких пептидов при С/В 4,3–4,9% существенно зависит от pH [401].

При низком уровне С/В интенсивное расщепление α-казеина может привести к появлению излишне нежной, мажущейся консистенции; при высоком уровне С/В протеолиз замедляется и консистенция остается слишком твердой. Lawrence et al. считают, что в сырах Чеддер первого сорта содержание С/В должно лежать в интервале 4,7–5,7, второго сорта – 4,0–6,0% [622].

В крупных сырах степень посолки должна соответствовать видовому составу лактобацилл в закваске. Наиболее чувствительна к соли из термофильных лактобацилл *Lbc. helveticus*, хотя по способности ферментировать углеводы, в частности галактозу, именно этот вид наиболее пригоден для выработки сыров данного класса. Степень зрелости сыра Грюйер де Комте с содержанием более 1% соли, выработанного с использованием в составе закваски из термофильных лактобацилл *Lbc. helveticus*, в 90-суточном возрасте соответствовала степени зрелости 45-суточного сыра с *Lc. lactis* [136].

Для изучения влияния степени посолки на сенсорные и химические показатели сыров выработали сыр Чеддер с содержанием соли 0–1,4%; сыры анализировали в 7-месячном возрасте [942]. Для сыров с пониженным содержанием соли были характерны высокие значения активности воды и степени протеолиза, большой объем микрофлоры кислый и горький вкус, неприятные посторонние привкусы. Консистенция этих сыров отличалась повышенной адгезийностью и когезийностью. Потребители не отметили разницы во вкусе сыров с 1,44 и 1,12% соли, но дальнейшее снижение содержания соли вызывало их нарекания.

В производстве крупных сыров с высокими температурами II нагревания важную роль играет щелочная протеиназа молока – плазмин, действие которой стимулируется низкими (до 2% в водной фазе) и ингибируются высокими концентрациями соли [1091].

Очень мало известно о влиянии содержания С/В на липолиз в сыре. Существует обратная корреляция между содержанием в сыре соли и влаги (рис. 10.6) [400]. Это обусловлено тем, что во время посолки масса выходящей из сыра влаги примерно в два раза превышает количество поглощаемой сыром соли.

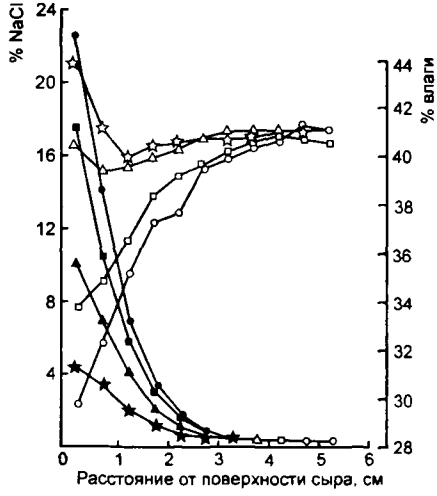


Рис. 10.6. *Содержание влаги (открытые символы) и соли в водной фазе (затемненные символы) в сыре Гауда как функция расстояния от поверхности сыра после 4 суток посолки при 20 °С с содержанием соли в рассоле, %: 5 (★,★), 12 (△, ▲), 20 (□, ■) и 24,8 (○, ●)* [401]

Чем дальше слой сыра отстоит от поверхности раздела между сыром и рассолом, тем выше в нем содержание влаги и ниже содержание соли за небольшим исключением: в близлежащих к поверхности слоях при использовании концентрированных рассолов содержание влаги может быть выше, чем в центральных. Неодинаковое содержание соли и влаги обусловливает сильные различия в консистенции сырной массы.

10.7. Заключение

Метод и степень посолки оказывает большое влияние на состав, микробиологические, биохимические процессы и качество сыра. В соответствии с рекомендациями органов здравоохранения существует тенденция к снижению степени посолки сыров и частичной замены натрия калием, который оказывает положительное влияние на сердечно-сосудистую деятельность. Снижение степени посолки ухудшает органолептические показатели и повышает опасность микробиологической порчи сыра, в частности маслянокислыми бактериями. Необходимости в этом нет, так как количество соли, поступающее в организм с сырами, очень мало по сравнению с его поступлением с другими продуктами. Исключением являются регионы с высоким потреблением рассольных сыров.

ГЛАВА 11

ФОРМИРОВАНИЕ ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТВЕРДЫХ СЫРОВ

11.1. Общие положения

Производство сыра разделяют на выработку и созревание. Выработка включает подготовку и свертывание молока, удаление из сгустка большей части сыворотки путем разрезания и вымешивания, формование, прессование и посолку. Ведущую роль на этой стадии играют четыре процесса: коагуляция молока, отделение сгустка от сыворотки, сбраживание молочного сахара и накопление биомассы молочнокислых бактерий (рис. 11.1). Конец выработки – это окончание формирования элементного состава сыра (во время созревания происходит незначительное изменение элементного состава сыра главным образом за счет усушки и выхода из сыра газообразных продуктов метаболизма микрофлоры).

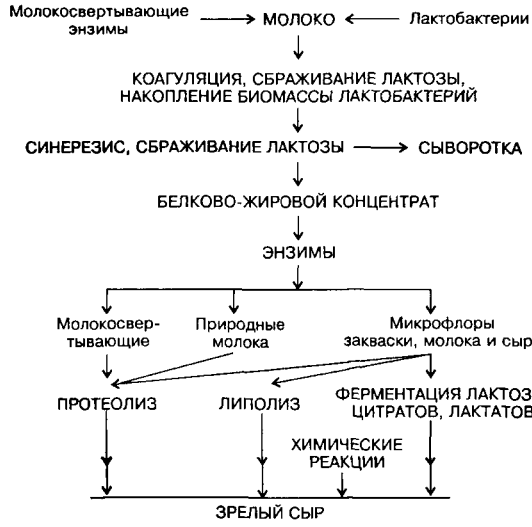


Рис. 11.1. *Схема формирования состава и органолептических показателей сычужных сыров при традиционном способе производства*

В результате первой стадии получается белково-жировой концентрат молока с определенным химическим составом и свойствами и пул свободных или находящихся в клетках бактерий энзимов. Отличительными особенностями конечного продукта первой стадии производства сыров с низкими температурами II нагревания являются:

- ограниченное содержание источников энергии для развития большинства сахаролитических бактерий;
- высокое содержание органических кислот (не менее 3% в сухом веществе молочной и небольшое количество уксусной кислот), pH 5,1–5,6;
- анаэробные условия, Eh от –140 до –200 мВ.

Продукт первой стадии можно использовать в пищу без какой-либо дополнительной обработки, если свертывание молока проводить кислотным или кислотно-сычужным способом (кисломолочные или свежие сыры). В этом случае он должен иметь чистый кисломолочный вкус с ароматом диацетила, высокое содержание влаги, обеспечивающее нежность его консистенции, и достаточно высокое содержание молочной кислоты для защиты от посторонней микрофлоры. Из-за высокого содержания влаги стойкость свежих сыров в хранении невысокая. Свежий сычужный сыр с низким содержанием влаги можно использовать для кулинарных целей; для непосредственного употребления он малопригоден из-за грубой консистенции и пустого вкуса.

Для выработки достаточно стойкого продукта с более широким вкусовым спектром, достаточно нежной и эластичной консистенцией свертывание молока проводят сычужным способом, содержание влаги в нем снижают, а сконцентрированные в сыре компоненты молока подвергают биотрансформации. Для осуществления биотрансформации компонентов молока продукт первой стадии выдерживают в течение установленного времени в строго определенных условиях. Эту выдержку называют *созреванием*. Разделение производственного цикла на выработку и созревание носит условный характер, так как трансформация компонентов молока в соединения, обусловливающие органолептические показатели сыра, начинается с момента внесения в молоко молокосвертывающих энзимов и заквасок. Однако такое деление облегчает описание процесса производства сыра.

Трансформация основных компонентов молока в соединения, определяющие органолептические показатели сыров, осуществляется под воздействием *молокосвертывающих энзимов, микрофлоры, используемой в производстве сыра* и в меньшей степени *природных энзимов* молока. Эти группы факторов достаточны для получения продукта с желаемыми свойствами. Кроме этого, на органолептические свойства сыров влияет микрофлора, попадающая в сыр с молоком и из внешней среды во время выработки независимо от желания сыродела. Чаще всего она ухудшает качество сыров.

Некоторую роль в формировании органолептических показателей сыра во время созревания играют неэнзиматические реакции, их роль недостаточно изучена.

Энзиматический характер созревания предопределяет строгие требования к физико-химическим показателям сырной массы (активной и

общей кислотности, $A_в$, температуре), которые должны обеспечивать возможность проявления активности энзимов.

Фундамент получения сыров высокого качества закладывается во время выработки: сыр, поступающий на созревание, должен иметь определенный химический состав и свойства, иметь достаточное количество энзимов, образуемых микрофлорой закваски, что оценивается по содержанию в сырной массе клеток молочнокислых бактерий, не должен содержать опасных количеств вредных для сыроделия микроорганизмов и посторонних биологически активных веществ. *Созревание не создает новые, а реализует сформированные во время выработки сыра возможности получения продукта высокого качества.* Дефекты выработки созревание не устраняет. Неадекватные условия созревания могут существенно ухудшить качество сыров, несмотря на проведение выработки согласно установленным требованиям.

Созревание сыров может происходить в аэробных (грибные, мягкие сыры) или анаэробных (твердые и полутвердые сыры) условиях. Созревание в аэробных условиях описано в главе 8, в настоящей главе рассматривается созревание сыров только в анаэробных условиях.

Органолептические показатели сыра разделяют на показатели вкуса и аромата, консистенции, рисунка, цвета теста, внешнего вида. Все они взаимосвязаны. Консистенция тесно связана со вкусом, образованием рисунка, стойкостью в хранении; хорошо выраженные вкус и аромат сыров возможны только при нормальной консистенции и соответствующем рисунке. Пороки внешнего вида сыров чаще всего вызываются ростом аэробной микрофлоры на поверхности сыров, энзимы которой проникают вглубь сыра и вызывают также нежелательные изменения вкуса, аромата, консистенции.

В английском языке для обозначения вкуса есть два термина: «taste» – собственно вкус – и «flavour», для которого нет соответствующего термина в русском языке. По смыслу ближе всего к этому понятию является «вкус и аромат», так как «flavour» означает суммарное ощущение (вкуса, запаха, консистенции), возникающее при попадании продукта в рот и его разжевывании. Полную словесную характеристику «сырного вкуса» дать невозможно. В дальнейшем это понятие будет использовано для обозначения вкуса и запаха, характерного для каждого вида сыра.

Более 200 потенциальных вкусо- и ароматообразующих веществ присутствуют в сырах, специфический вкус того или иного сыра зависит от присутствия этих веществ в сыре, количества и соотношения между ними. Одно и то же соединение в зависимости от концентрации может быть составным компонентом вкуса и аромата и причиной пороков сыра.

Вкусовые и ароматические вещества сыров формируются из компонентов молока и продуктов полной или частичной трансформации лактозы, цитратов, белков и липидов. Биотрансформация компонентов молока во вкусовые и ароматические соединения сыра – сопряженный процесс. Так, интенсивность и специфичность протеолиза и липолиза в большой

степени зависит от pH, величина которого обусловливается главным образом продуктами расщепления лактозы. Свободные жирные кислоты, особенно с короткой цепочкой, – важнейшие слагаемые вкуса и аромата – образуются не только в результате липолиза, но и из продуктов расщепления белков и лактозы. В работах по ускорению созревания сыра Фета специфические для него сенсорные показатели были получены только при одновременном внесении в сырную массу протеиназ и липаз [1122].

В формировании сенсорных показателей сыров принимают участие соль и специфические ароматизаторы и наполнители, применяемые в производстве некоторых видов сыров.

Вкус и аромат сыров определяется сбалансированным комплексом соединений. При нарушении состава или соотношения между этими соединениями появляются пороки вкуса. Специфичность вкуса того или иного вида и класса сыров может зависеть от небольшого количества компонентов.

Консистенция – показатель качества сыра, легко распознаваемый потребителем. Натуральные сыры являются твердыми телами, т. е. способны сохранять свою форму и размеры. Для их деформации необходимо приложить определенное усилие. Если прилагаемая нагрузка небольшая и не ведет к разрушению образца, то после ее снятия образец возвращается в исходное состояние. Способность тела восстанавливать свою форму и размеры после снятия нагрузки называется *упругостью* и *эластичностью*. Деформацию, исчезающую после снятия нагрузки, называют *обратимой*. Деформацию, не исчезающую после снятия нагрузки, называют *необратимой*, или остаточной. Она характеризует *пластичные свойства* сыра. Как твердые тела сыры обладают *твердостью*, характеризуемой *модулем сдвига* или *модулем эластичности*, равными отношению прикладываемых усилий к величине вызываемых ими относительных деформаций сдвига или сжатия.

Наряду со свойствами твердого тела, сыры обладают и *свойствами жидкости* – способностью течь, принимать форму и размеры контейнера, в котором они содержатся. Жидкость характеризуется *вязкостью*, под которой понимают отношение между величиной прикладываемого усилия и изменением скорости вызываемого этим усилием течения материала. Таким образом, сыры обладают *вязкоэластичными свойствами*. В твердых сырах преобладают эластичные свойства, в мягких – вязкостные.

На практике консистенцию оценивают по ощущениям, возникающим во рту при пережевывании и проглатывании сыра. Эти ощущения в основном обусловлены реологическими свойствами продукта. Однако в специальной литературе под консистенцией понимают сумму свойств сыра, воспринимаемых глазами, пальцами, кожей, зубами, вкусовыми рецепторами [1510, 1549]. Это понятие консистенции (texture) включает не только реологические показатели, но и внешний вид продукта: рисунок, наличие трещин, цвет теста. В рамках данной работы под «консистенцией» понимается сумма ощущений, возникающая во рту при пе-

режевывании и проглатывании сыра, плюс самокол, т. е. то, что относит к этому понятию ГОСТ на сычужные сыры. Для обозначения консистенции сыра в широком смысле целесообразно использовать другие термины – «структура» или «текстура».

Для оценки консистенции используют реологические показатели, определяемые инструментальными и субъективными методами. Между некоторыми реологическими показателями и субъективной оценкой имеется достаточно высокая корреляция. На рис. 11.2 показано соотношение между субъективной оценкой экспертами твердости нескольких сыров и усилием, необходимым для сжатия образца на 80% от уровня, при котором происходит его разрушение.

Стандартное отклонение от линии регрессии в опыте было меньше, чем разница в оценке различными экспертами. Из рис. 11.2 видна достаточно высокая корреляция между органолептической и инструментальной оценками твердости сыра. Меньшее совпадение между субъективной оценкой упругости, эластичности сыра и восстанавливаемостью размеров и формы образца после снятия нагрузки в пробе на сжатие [845].

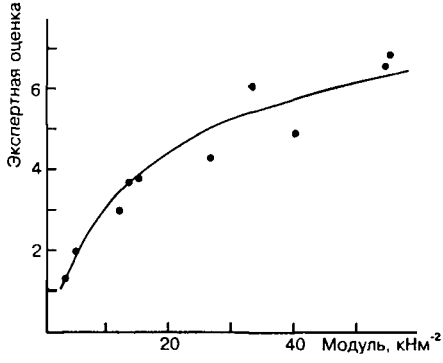


Рис. 11.2. *Сравнение между оценкой твердости консистенции сыров группой экспертов и напряжением, необходимым для сжатия образца на 80% от необходимого для разрушения уровня* [632]

Рисунок – это пустоты (глазки) в сырной массе, заполненные газом. Рисунок может быть сформирован вследствие образования газов микрофлорой закваски, пропионовокислыми бактериями или технически вредной микрофлорой (БГКП, маслянокислыми бактериями), а также в результате механического захвата воздуха сырной массой в сырах, формуемых насыпью (пустотный рисунок). Количество, форма и размеры глазков зависят от состава микрофлоры сыров и в определенной степени от физико-химических показателей сырной массы во время газообразования, поэтому рисунок является показателем качества сыра, при этом наиболее легко распознаваемым потребителем. В некоторых сырах, например, в Чеддере, наличие рисунка (открытая структура) рассматривается как порок, поскольку цитраты – основной источник для образования газа микрофлорой лактококковых заквасок – должны быть расщеплены до формования сырной массы.

Главным процессом в созревании сыра является протеолиз, содержание продуктов которого служит показателем степени зрелости сыра. Именно протеолиз лежит в основе формирования вкуса, консистенции и других показателей сыра [1147, 1737]. Основные группы продуктов протеолиза в сырах показаны в табл. 11.1 [607]. Степень зрелости сыров выражают отношением содержания водорастворимого азота к содержанию общего азота в процентах или в градусах Шиловича (градусах буферности) [1242]. Содержание водорастворимого азота характеризует «ширину» протеолиза. Существует также понятие «глубина» протеолиза, характеризуемая отношением количества аминного азота к количеству водорастворимого азота [1147]. При особенно глубоком расщеплении белков в сыре часть азота может быть утеряна в виде аммиака, что понижает отношение аминного азота к водорастворимому и приводит к неверной оценке глубины протеолиза по этому показателю [1737]. В настоящее время все больше авторов считают содержание свободных аминокислот главным показателем степени зрелости сыра.

***11.1. Состав растворимых азотистых фракций, используемых в качестве показателей созревания сыров* [607]**

Фракции азотистых веществ	Состав
Растворимый азот (растворимый в воде, растворах соли при pH 4,6)	Белки, пептиды, аминокислоты
Растворимый небелковый азот (растворимый в трихлоруксусной кислоте, 70% спирте)	Пептиды, аминокислоты
Аминный азот (растворимый в сульфосалициловой кислоте, фосфорновольфрамовой и пикриновой кислотах, не осаждаемый таннином)	Низкомолекулярные пептиды, аминокислоты

Панов с соавт. находят существующие методы определения аминного азота в сырах недостаточно воспроизводимыми и предлагают фракцию азота, осаждаемую ТХУ, разделить на две: осаждаемую 2% ТХУ (белки и высокомолекулярные пептиды) и 12% ТХУ (дополнительно осаждает пептиды со средней молекулярной массой и часть низкомолекулярных пептидов) [1565]. Для оценки глубины протеолиза они предлагают использовать разность между этими субфракциями.

Алексеев выделяет следующие фракции растворимых в воде азотсодержащих компонентов сыров: растворимый белковый азот, осаждаемый ТХУ; небелковый азот, не осаждаемый ТХУ; азот полипептидов, осаждаемый таннином; аминный азот, не осаждаемый таннином; азот пептидов, осаждаемый спиртом; азот аминокислот, амидов, аммиака [1190].

Restani et al. показателем степени созревания и качества итальянских терочных сыров (Подано) считает содержание γ-казеинов, продуктов расщепления β-казеина плазмином [1624].

Важнейшую роль в созревании сыров играет липолиз, который обычно оценивают по количеству свободных жирных кислот (СЖК) в

сыре. Однако основная часть жирных кислот с короткой цепочкой образуется в сыре в результате сбраживания лактозы и дезаминирования аминокислот [331, 615, 824], а не расщепления глицеридов молочного жира. При липолизе образуются СЖК с длиной цепочки больше 4.

11.2. Факторы созревания твердых сыров

Главную роль в трансформации основных веществ молока во вкусовые и ароматические соединения сыра играют энзиматические процессы. Чисто химические процессы имеют меньшее значение, поскольку созревание твердых сыров проходит в анаэробных условиях, при сравнительно низких температурах и умеренной кислотности, без притока экзогенной энергии. В этом разделе охарактеризованы источники энзимов, принимающих участие в созревании твердых сыров (рис. 11.1).

11.2.1. Природные энзимы молока

Сыры из сырого молока часто имеют более выраженный вкус, чем из этого же молока, подвергнутого тепловой обработке, что обычно считают доказательством участия природных энзимов молока в созревании сыра. Это не совсем верно, так как в сыром молоке, поступающем на выработку сыра, имеются не только природные энзимы молока, но и энзимы, продуцируемые микрофлорой молока, которые могут оказывать положительное или отрицательное влияние на качество сыра. Энзимы большинства представителей микрофлоры молока инактивируются при пастеризации и проявляют себя только в сырах, вырабатываемых из сырого молока. Сравнение протеолиза в Чеддере из сырого молока и из того же молока, пастеризованного при 63° С в течение 30 мин, показало, что в сырах из сырого молока было выше содержание растворимых в ТХУ азотистых соединений, более интенсивно шли гидролиз β-казеина и накопление высокомолекулярных продуктов расщепления α_{s1}-казеина [602].

Основной природной протеиназой молока является плазмин, разрывающий связь Лиз-Х преимущественно в β-казеине с образованием γ-казеинов и протеозо-пептонной фракции (7.2.11) [524, 953]. В молоке есть собственно плазмин; его предшественник – плазминоген, в форме которого находится большая часть плазмина; активаторы и ингибиторы плазмина и плазминогена; проактиваторы и, возможно, ингибиторы активаторов [394]. Оптимальные для действия плазмина температура и pH равны 37° С и 7,0–8,0, но он сохраняет достаточно высокую активность в интервале pH от 5,0 до 9,0 [394, 1748]. До 20% активности плазмина сохраняется после выдержки в буфере с pH 7,0 при 70° С в течение 10 мин, а полная инактивация его наступает после 10 мин выдержки при 80° С, или 15–18 с при 90° С [394, 799, 953, 1748]. Интересно, что активность плазмина в молоке резко снижается сразу после пастеризации, но при хранении пастеризованного молока она снова увеличивается и может превысить исходную активность плазмина в сыром молоке [575, 893].

Richardson объясняет это разрушением во время пастеризации плазмина и веществ, ингибирующих действие активаторов плазмина, последнее приводит к увеличению плазминогенной активности во время хранения пастеризованного молока [893]. Концентрации соли в сыре до 2% стимулируют, более высокие – ингибируют действие плазмина в сырах [778].

Наибольшую роль плазмин играет в сырах с высокой температурой II нагревания из-за повышенного уровня pH, пониженного содержания соли и продолжительного созревания, а также инактивации молокосвертывающих энзимов во время II нагревания [394, 607, 1748]. Установлено, что потенциальная активность плазминогена в этих сырах в 5-суточном возрасте была в несколько раз выше, чем действующая, и она начала реализовываться с трехмесячного возраста после некоторого повышения pH в результате пропионовокислого брожения.

В Чеддере содержание плазмина в 2–3 раза ниже, чем в Швейцарском сыре [623]. Однако и в этом сыре во время созревания появляются продукты протеолиза типа γ-казеина [193]. Поскольку эти продукты получаются в результате гидролиза β-казеина плазмином, данный факт является косвенным доказательством участия плазмина в созревании Чеддера. В быстро созревающих сырных пастах характерные для Чеддера вкус и аромат коррелировали с образованием продуктов расщепления β-казеина, который в сырах не гидролизуется реннетом [408].

В сыре Гауда, выработанном в асептических условиях без участия микроорганизмов и реннета, через 6 мес созревания в результате действия протеиназ молока (очевидно, плазмина) количество растворимого азота увеличилось на 2,0–4,7%, что составляет до 12% от общего объема протеолиза в этом сыре, вырабатываемом в обычных условиях [1135]. Японские ученые выделили из сыра Гауда энзим, идентичный по свойствам плазмину [1775].

Данные, приведенные в табл. 11.3, свидетельствуют о том, что вклад плазмина в протеолиз в сырах с низкими температурами II нагревания более скромный, чем вклад молокосвертывающих ферментов и микрофлоры закваски. В отечественных сырах этого класса он еще ниже из-за высокого содержания соли.

В молоке обнаружена кислая протеиназа, оптимальный pH для действия которой равен 4,0, температура – 50° С [1748]. Полная инактивация кислой протеиназы происходит при 70° С через 10 мин. Наиболее активно кислая протеиназа расщепляет α-казеин. Роль кислой протеиназы молока в созревании сыра не выявлена, так же как и других протеолитических энзимов молока (нейтральной протеиназы, аминопептидаз) [607].

Среди нативных энзимов молока есть липаза, но она полностью разрушается при пастеризации [1748]. Опыты с выработкой Чеддера из сырого и пастеризованного молока в асептических условиях показали, что природная липаза молока при выработке сыра из сырого молока повышает степень липолиза на 15–20% [879, 1748]. Добавление к молоку выделенной из сырого молока липазы привело к увеличению содержания в опытных сырах свободных жирных кислот. Роль других природных энзимов молока в созревании сыров не исследована.

Содержание в сыром молоке многих энзимов, в частности протеиназ и липаз, сильно возрастает при увеличении количества соматических клеток (разд. 7.2.12). Протеиназы соматических клеток обладают достаточно высокой устойчивостью к тепловой обработке: Д-значения для них при температурах 72, 76 и 81° С равняются соответственно 512,4; 41,7 и 9,1 мин [1129]. Протеиназы соматических клеток проявляют активность по отношению к α- и β-казеинам в широком диапазоне температуры и pH [25]. По-видимому, они в большой степени снижают качество сыра, вырабатываемого из молока с высоким содержанием соматических клеток. Очень мало известно о липазах соматических клеток.

11.2.2. Энзимы микрофлоры сырого молока

Энзимы, образуемые микрофлорой в сыром молоке, могут участвовать в созревании сыра, вырабатываемого из пастеризованного молока, если они сохранят часть активности после тепловой обработки. К таким энзимам относят протеазы и липазы, образуемые психротрофами (разд. 6.7). Среди психротрофов сырого молока доминируют псевдомонады. 94% выделенных из молока псевдомонад обладали протеолитической и липолитической активностями, в т. ч. 23,4% в сильно выраженной, 29,4% – в слабо выраженной формах [1463]. 60% псевдомонад разжижали желатин [1395]. Сильные протеолиты и липолиты имеются среди психротрофов других родов и видов бактерий. Так, среди психротрофных штаммов *Ent. cloacae* протеолитической и липолитической активностью обладали соответственно 37 и 19, *Serratia marcescens* – 0 и 67, *Kl. oxitocae* – 15 и 8% штаммов [1164].

В сыром молоке достаточное количество термостойких липаз и протеиназ образуется при наличии более 10^6 КОЕ/мл психротрофов. Такое молоко не следует использовать для выработки сыров с созреванием, однако психротрофы обладают низкой редуцирующей способностью и плохо выявляются редуктазной пробой, что затрудняет своевременное выявление молока, содержащего большое количество этих бактерий [934]. Содержание психротрофов в сборном молоке может возрасти во время его резервирования на заводе, поскольку температуры резервирования молока не препятствуют их размножению.

В культуральной среде *Ps. fluorescens* и *Ps. aeruginosa* максимальное количество протеиназ и липаз образуется при 20 и 30° С соответственно [514]. С понижением температуры общее содержание этих энзимов в среде уменьшается, а в пересчете на единицу сухой биомассы увеличивается; при температуре 2° С синтез протеиназ и липаз прекращается или происходит с очень низкой скоростью. При 4° С синтез протеиназ и липаз *Ps. fluorescens* на ед. клеточной массы был на 25% выше, чем при 10° С [389]. Липолитическая активность псевдомонад наиболее сильно проявляется при 5° С [1635]. Оптимальный pH для синтеза протеиназ и липаз псевдомонадами лежит в интервале 6,8–7,4; в отсутствие аэрации они начинают синтезировать внеклеточные протеиназы и липазы при более низкой концентрации клеток в среде [1463].

Большинство нейтральных и щелочных протеиназ псевдомонад относится к классу металлопротеиназ, нуждающихся в дивалентных катионах (Co^{2+}, Ca^{2+}); при гидролизе белков они образуют гидрофобные пептиды, обладающие горьким вкусом [524]. Следующие оптимальные параметры были получены для действия протеолитических систем *Ps. fluorescens*: температура 46–48° С, pH 7,5–7,9. Co^{2+}(25 ммоль) повышал их активность в 11–12 раз, Ca^{2+} оказывал небольшое стимулирующее действие, Zn^{2+} и Hg^{2+} снижали активность на 40% [1455]. В характерных для сыров условиях они сохраняют высокую активность. Протеиназы различных штаммов псевдомонад мало отличались по типу расщепляемых связей, но сильно отличались по активности [1455].

Псевдомонады расщепляют все казеины: один штамм *Ps. fluorescens* за 2 сут при 5° С расщепил 60% *æ*-, 39% *β*- и 23% α_{s1}-казеина [898]. В табл. 11.2 показано действие психротрофов на фракции казеина [898].

11.2. Специфичность действия протеиназ психротрофов

Продуценты протеиназ	Расщепляемые казеины	Доза продуцента, КОЕ/мл	Авторы
Псевдомонады	α_{s1}-, *β*-	$5 \cdot 10^8$	Cousin & Marth, 1977
Флавобактериум	*α*-, *β*-	$3 \cdot 10^7$	Cousin & Marth, 1977
Микрококки	*α*-, *β*-	$7 \cdot 10^5$	Cousin & Marth, 1977
Ps. putida	*æ*-, *β*-	$1 \cdot 10^7$	Law et al., 1979
Ps. fluorescens	*æ*-, *β*-	$1 \cdot 10^7$	Law et al., 1979
Псевдомонады	*æ*-, *β*-, *α*-, *γ*-		Richardson et al., 1979
Псевдомонады	*æ*-, *β*-, *α*-, *γ*- лактоглобулин и *α*-лактальбумин	10^4–10^8	Adams et al., 1976

При длительном культивировании начинается автолиз клеток псевдомонад и в среду выделяются внутриклеточные протеиназы. Данных о термоустойчивости внутриклеточных протеолитических энзимов псевдомонад и возможности их участия в созревании сыров обнаружить не удалось.

Gobletti et al. доказали, что очищенная аминопептидаза из *Ps. fluorescens* расщепляет синтетические горькие пептиды (не все) и горькие пептиды энзиматического гидролизата молока, пастеризованного при ультравысоких температурах [366]. Специфический профиль пептидных связей аминопетидазы, включающий аминокислоты Лей, Трп, Вал – главные компоненты горьких пептидов, доказывает ее «антигорькую» направленность. В итальянском мягком сыре Качиотта активность аминопептидазы сохраняется в течение 2-х мес.

Ps. fluorescens образует фосфолипазы, катализирующие гидролиз фосфолипидов – компонентов оболочки жировых шариков [1350]; в результате гидролиза разрушаются оболочки жировых шариков, и мо-

лочный жир становится более чувствительным к химическому окислению и действию липаз.

Уникальным свойством протеиназ и липаз психротрофов является их необычайно высокая термоустойчивость. Они не инактивируются пастеризацией молока при 77° С в течение 17 с и 140° С в течение 5 с; $Д_{90°С}$ протеиназы *Ps. fluorescens* равнялось 110 мин [241]. При 135° С Д-значение протеиназ психротрофов было в 10 раз выше, чем Д-значение спор *B. stearothermophilus*, отличающиеся особо высокой термоустойчивостью [321]. Однако 20-минутная выдержка при 55 и 60° С снижает активность протеиназ психротрофов на 44 и 47%. При 45° С они полностью инактивируются за 30 мин [241]. Если при 45–60° С протеиназы психротрофов инактивируются, то при температуре 65° С и выше они становятся термоустойчивыми [172, 898]. Липаза *Ps. fluorescens* полностью или частично инактивировалась при 65° С [172]. Инактивацию протеиназ при относительно низких температурах объясняют их автолизом, устойчивость при высоких температурах – конформационными изменениями белка [241].

Поскольку протеиназы и липазы психротрофов пастеризацией молока не инактивируются, можно ожидать, что сыры, выработанные из молока с высоким уровнем развития психротрофов, будут низкого качества. В сыре Чеддер, выработанном из молока с наличием более 10^7 КОЕ/мл психротрофов, количество свободных жирных кислот было в 3–10 раз выше, чем в сырах из молока с низким содержанием психротрофов; в 4-месячных опытных сырах появился прогорклый вкус [605]. Прогорклый вкус сыров как следствие развития псевдомонад в сыром молоке встречается чаще, чем пороки, связанные с протеиназами психротрофов, хотя в опытах используют штаммы псевдомонад с невысокой липолитической активностью; связано это с низким вкусовым порогом продуктов липолиза.

Голландский сыр, выработанный из молока с 10^6 КОЕ/мл психротрофов, в зрелом возрасте получил оценку на 1 балл ниже, чем контрольный сыр, а опытный сыр из молока с $5 \cdot 10^6$ КОЕ/мл – на 3 балла ниже [1756]. Небольшая разница в оценке обусловлена коротким периодом созревания этого сыра (45 сут), во время которого результаты деятельности энзимов психротрофов не успевают проявиться в полной мере. Зрелые сыры хранили при 1 и 8° С в течение 3-х мес: после хранения при 1° С качество опытных сыров было ниже, чем контрольных, на 1–2 балла, при 8° С – на 3–6 баллов.

Сыры Камамбер, выработанные из молока, хранившегося 9 дней при 5° С, имели горький и прогорклый вкус, не имели аммиачного запаха, содержали больше свободных жирных кислот, чем сыры, выработанные из этого же молока после 2-суточного хранения при 5° С [261].

11.2.3. Молокосвертывающие энзимы

Главной функцией молокосвертывающих энзимов является расщепление в $\varkappa$-казеине связи $Фен_{105}$-$Мет_{106}$, в результате чего от $\varkappa$-казеина

отщепляется макропептид, мицеллы казеина теряют стабильность, и молоко свертывается. Это происходит во время выработки сыра в сырной ванне. Часть молокосвертывающих энзимов уходит с сывороткой, часть остается в сыре; оставшиеся в сыре энзимы расщепляют казеины по другим связям и тем самым принимают активное участие в созревании сыров. Исключение составляют сыры с высокими температурами II нагревания и с плавлением сырной массы, во время выработки которых молокосвертывающие энзимы большей частью или полностью разрушаются. Таким образом, молокосвертывающие энзимы кроме свертывания молока непосредственно участвуют в формировании органолептических показателей сыра.

Количество реннина, остающееся в сыре, увеличивается с увеличением его дозы, вносимой в молоко, и кислотности сыворотки. Грибные энзимы задерживаются в сырах в меньших количествах, чем реннин. Повышение температуры II нагревания снижает активность остающегося в сырах молокосвертывающего энзима [1748]. Уцелевший во время выработки реннин сохраняет активность в течение всего периода созревания сыра.

Высокая общая протеолитическая активность молокосвертывающих энзимов по сравнению с реннетом оказывает отрицательное влияние на качество сыров, особенно с длительными сроками созревания. Сыры, вырабатываемые с кристаллическим химозином, имеют менее выраженный вкус и медленнее созревают по сравнению с сырами, вырабатываемыми из этого же молока и по этой же технологии, но с сычужным порошком (реннетом). Следовательно, протеолиз, обусловливаемый общей протеолитической активностью молокосвертывающих энзимов, в определенной степени необходим или полезен в получении сыров высокого качества.

Химозин в растворе атакует α- и β-казеин, хотя они не имеют связи Фен – Мет [612]. Характер расщепления химозином казеинов показан в разд. 2.4.2. В сырах химозин и пепсин атакуют медленно или почти не атакуют β-казеин, что может быть связано с низкой активностью воды или иммобилизованным состоянием β-казеина [213].

Химозин и свиной пепсин в сыре образуют при расщеплении α_{s1}-казеина α_{s1}-I пептид, но этот пептид далее расщепляет только химозин и энзимы молочнокислых бактерий [1176].

В сырах, вырабатываемых с химозином, последний ответственен за образование значительной части растворимого азота, пептидов большой молекулярной массы, но только небольшой части свободных аминокислот (табл. 11.3) [1135, 1386]. При совместном действии реннина и закваски количество крупных и средних пептидов в сырах уменьшается, а количество мелких пептидов и аминокислот увеличивается, по сравнению с сырами, выработанными без закваски, что свидетельствует об активном расщеплении микрофлорой закваски пептидов, образуемых реннином. Ю. Свириденко и Г. Свириденко объясняют низкую активность молокосвертывающих энзимов при высвобождении свободных

аминокислот из казеина стабилизацией пептидных связей связанными с казеином фосфатами [1650, 1651].

11.3. Количество растворимых азотистых веществ, образованных под действием протеолитических энзимов в сыре Гауда, выработанном в асептических условиях [1135]

Продолжительность созревания, мес	Протеолитические системы	Растворимый азот, % от общего N				
		Всего	Пептиды с мол. массой			аминокислоты
			>14000	14000–1400	<1400	
1	Реннин	6,0	2,7	2,7	1,2	0,1
	Заквасок	2,5	0,2	0,6	0,4	1,3
	Природные молока	2,0	0,2	0,4	1,3	0,1
	Все системы*	12,2	1,8	2,3	6,1	2,0
3	Реннин	12,7	3,6	5,2	3,7	0,2
	Заквасок	4,7	0,3	0,7	1,4	2,3
	Природные молока	3,3	0,4	0,7	1,9	0,3
	Все системы*	19,5	2,3	3,3	9,1	4,8
6	Реннин	17,3	4,4	4,1	8,4	0,3
	Заквасок	7,6	0,9	0,3	2,4	4,0
	Природные молока	4,7	0,5	1,0	2,7	0,5
	Все системы*	26,0	5,5	2,3	10,8	7,4

* при совместном действии всех трех факторов

В протеолизе участвуют не только химозин, но и другие молокосвертывающие энзимы. Пепсины и плесневые протеиназы обладают большей активностью по отношению к $\varkappa$-, α- и β-казеинам [213]. Продукты расщепления ими казеинов схожи, но не тождественны продуктам, образующимся под воздействием химозина. Исключением является энзим из *End. parasitica*, сильно отличающийся продуктами протеолиза от других молокосвертывающих энзимов. Чем сильнее молокосвертывающие энзимы отличаются от химозина, тем больше вероятность возникновения пороков.

Гидролиз α- и β-казеинов молокосвертывающими энзимами идет с гораздо более низкой скоростью, чем $\varkappa$-казеина, но благодаря длительности созревания и участию протеолитических энзимов микрофлоры закваски к концу созревания α_{s1}-казеин и часть β-казеина бывают расщеплены [213]. Пептиды, получающиеся в результате гидролиза казеинов молокосвертывающими энзимами, более доступны, чем исходный казеин, для протеолитических энзимов микрофлоры заквасок, которые играют главную роль в созревании твердых сыров.

Потери молочного жира с сывороткой выше, а плотность сгустка и качество сыра Чеддер ниже при использовании для свертывания молока

пепсина вместо химозина. Исследования влияния сычужного фермента (СФ), энзима Мейто (М) и Реннилазы (Р) на химический состав сыра Чеддер показали, что самое высокое содержание влаги было в сырах, выработанных со смесью 1:1 М и Р, самое низкое – со смесью Р и СФ; М один или в смеси повышал содержание влаги и титруемую кислотность сыров; сыры с плесневыми протеиназами имели более высокое содержание летучих жирных кислот и быстрее созревали [1116]. Creamer et al. считают, что самые большие различия между сырами, вырабатываемыми с химозином и Реннилазой, касаются низкомолекулярных пептидов [192].



Юрий Яковлевич Свириденко род. 1949 г.

От вида молокосвертывающих энзимов зависит выход сыра, что обусловлено их различной протеолитической активностью. Так, были выработаны из одного и того же молока сыры со следующими комбинациями молокосвертывающих энзимов: 1 – сычужный порошок; 2 – рекомбинантный химозин (химозин, полученный методами генной инженерии); 3 – смесь 1:1 сычужного порошка и говяжьего пепсина; 4 – протеаза из *Mucor miehei*; 5 – протеаза из *Mucor pusillus*; 6 – протеиназа из *Endothia parasitica* [1120]. Выход сыра был примерно равен в вариантах 1, 2 и 3, в остальных вариантах он был более низким. Выход Чеддера, выработанного на энзиме фирмы Хансена Ha-La (смесь химозина и пепсина, получаемая из телят), был на 0,39%, выше, чем выход сыра, выработанного с энзимом Мейто [548].

В промышленных препаратах молокосвертывающих энзимов имеются примеси липаз [1566]. При одинаковой молокосвертывающей активности скорость гидролиза оливкового масла при 37° С и pH 6,4 составила в нмоль · (мин$^{-1}$ · мл$^{-1}$) для сычужного порошка, говяжьего и свиного пепсинов, энзима Мейто примерно 2,2; для Реннилазы – 0,65; Фромазы – 0,88 и куриного пепсина – 2,78 [1566]. Сопутствующие молокосвертывающим энзимам липазы были активны в широком диапазоне pH с оптимумом 5,5–7,0. Роль их в созревании сыров мало изучена.

В Италии для производства сыров вида Проволоне, острый вкус которых во многом обусловлен высоким содержанием масляной кислоты, готовят специальные сычужные пасты путем забоя телят, козлят или ягнят сразу после скармливания им молока, выдержке желудка со свернутым молоком в течение 60 дней и растиранием желудка с содержимым [57]. Во время кормления эстеразы поджелудочной железы поступают одновременно с молоком в желудок. При выдержке в желудке наблюдается значительный рост микрофлоры. В зрелых желудках содержится смесь эстераз поджелудочной железы, желудочных протеиназ и

липаз желудка, протеиназ и липаз микрофлоры. Получаемая паста обладает молокосвертывающей и липолитической активностью и позволяет вырабатывать сыры со специфическим вкусом; в сыре Проволоне после 370 сут созревания при использовании обычного реннета содержание масляной кислоты составило 0,71, при использовании сычужной пасты из козлят – 3,2 мг/г (Long & Harper, 1956) [57].

Вид молокосвертывающих энзимов не оказал влияния на развитие микрофлоры закваски, лактобацилл и энтерококков в сыре Чеддер [1117].

Степень участия молокосвертывающих энзимов в созревании сыров зависит от их количества, остающегося в сырной массе. Опыты с сыром Моцарелла с разным количеством реннета, остающимся в сыре (от 0,20 до 0,46 ед/г), показали, что прочность на разрыв сыра по мере его хранения при 10 °С снижалась, а содержание небелкового и водорастворимого азота повышалось пропорционально количеству оставшегося в сыре молокосвертывающего энзима [587].

11.2.4. Энзимы микрофлоры заквасок

Общие понятия

Энзимы микрофлоры лактококковых заквасок являются главным фактором созревания сыров с низкими температурами II нагревания. Общее количество этих энзимов пропорционально биомассе лактококков, накопленной в сыре. Эффективность и направленность их действия зависит от физико-химических условий сырной массы, регулируемых технологией сыра, видового и штаммового состава заквасок. Физико-химические условия сырной массы во время выработки и созревания сыра меняются, а следовательно, меняются и условия для действия энзимов, что создает большие трудности в управлении процессами формирования органолептических показателей сыра.

В табл. 11.4 показана взаимосвязь между оценкой и изменениями содержания молочнокислых бактерий в Голландском сыре. В первую группу в этих исследованиях включены сыры высшего сорта, во вторую группу – первого сорта и в третью – несортовые. Отличительными чертами развития микрофлоры закваски в сырах 1 группы было сравнительно быстрое ее развитие в период выработки, достижение максимальной плотности популяции в 7–8 суточных сырах и снижение количества жизнеспособных клеток, начиная с 15–20-суточного возраста. Если в сырах первой группы содержание клеток молочнокислых бактерий в конце прессования по отношению к их содержанию в смеси возросло в 86–94 раза, то в сырах второй группы – только в 35 раз, а максимальная плотность популяции достигалась через 8–11 сут. Еще более медленно шло нарастание биомассы в сырах третьей группы. Отношение действующих биомасс молочнокислых бактерий в сырах 1, 2 и 3 групп составили примерно 2:1,5:1,1. Замедление развития микрофлоры заквасок в сырах второй и третьей групп уменьшило долю ее энзимов за счет

увеличения доли энзимов посторонней микрофлоры. Следует сказать, что достаточно быстрое развитие микрофлоры закваски во время выработки и прессования сыров – необходимое, но недостаточное условие для получения продукта высокого качества. Слишком быстрое развитие микрофлоры закваски в этот период (увеличение численности молочнокислых бактерий в сырах после прессования более чем в 160 раз по сравнению с ее содержанием в смеси) также нежелательно, что будет показано ниже. По Перфильеву (1998), в мелких сырах после прессования при использовании угличских заквасок должно содержаться $(0,8–1,0)\cdot10^9$ КОЕ/г молочнокислых бактерий.

***11.4. Влияние содержания молочнокислых бактерий в Голландском сыре на его органолептические показатели* (по Перфильеву, 1998)**

Показатели, ед. изм.	Группы сыров		
	1 (n=22)	2 (n=13)	3 (n=6)
Общая оценка, баллы,	90,6±1,4	85,7±1,93	83,3±2,8
в т. ч. вкус и запах	38,4±0,9	34,9±1,20	31,8±1,3
Кол-во лактобактерий (10^6 КОЕ/г):			
после прессования	900±450	450±370	260±105
5 сут	1600±400	1000±520	440±150
10 -»-	1600±550	1100±660	680±460
20 -»-	1450±800	1000±350	850±350
30 -»-	1100±1000	720±650	900±160
40 -»-	360±280	450±340	700±130
60 -»-	100±90	230±200	360±170
90 -»-	30±10	110±80	290±40

Протеолитические энзимы

Необходимый для биосинтеза белков материал лактобактерии получают в виде свободных аминокислот (САК) или пептидов с числом аминокислотных остатков не более 7 и молекулярной массой меньше 1500, которые способны проходить через клеточную стенку и мембрану против градиента концентрации [571]. Затраты энергии на перенос аминокислот в составе низкомолекулярных пептидов меньше, чем на перенос свободных аминокислот, поэтому размножение лактококков в средах с низкомолекулярными пептидами идет более интенсивно. Однако есть штаммы сливочного лактококка, которые неспособны расти на средах, единственным источником азота в которых являются низкомолекулярные пептиды [1490]. Пул низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот в парном молоке удовлетворяет потребности лактококков менее чем на 20%, поэтому гидролиз части казеина свежего молока до этих соединений – необходимое условие для быстрого развития в нем лактококков [571, 615].

Для получения источников азота в доступной форме лактококки обладают набором протеолитических энзимов – от протеиназ до амино-, карбокси- и дипептидаз [180, 607, 611]. На рис. 3.4 показана схема протеолитической системы и транспортировки низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот внутрь клетки у лактобактерий [571, 611]. Несмотря на наличие сложной протеолитической системы, молоко, инокулированное молочнокислыми бактериями, образует сгусток, который не показывает видимых признаков протеолиза независимо от продолжительности инкубации. По-видимому, образующаяся при развитии лактобактерий кислота быстро подавляет активность их протеолитических энзимов в молоке.

Начальный этап расщепления казеинов лактококками происходит при участии протеиназ, локализованных в клеточной стенке (протеиназы клеточной стенки) [457, 611]. У лактококков обнаружено не менее трех протеиназ клеточной стенки, оптимальные температуры и pH которых равняются 30° С и 5,4; 30° С и 5,8; 40° С и 6,5 [180]. Особенно чувствительны протеиназы лактококков к pH [359].

Ни один из штаммов лактококков не содержит все протеиназы одновременно, что обусловливает различия между штаммами по протеолитической активности. Учитывая чувствительность к pH и температуре, протеиназы лактококков должны проявлять достаточно высокую казеолитическую активность во время выработки, но низкую – во время созревания твердых сыров. Для созревания сыра наиболее пригодны штаммы с оптимальной активностью протеиназы при pH 5,4. Показательно, что сыры с низким pH, в частности сыры типа Чеддер, созревают очень медленно. Наименее пригодны для сыроделия штаммы, оптимальные температура и pH для действия протеиназ которых равны 40° С и 6,5, поскольку высокая протеолитическая активность микрофлоры заквасок во время выработки может вызвать горечь в сыре и снизить его выход.

Изучение протеиназ клеточной стенки молочного и сливочного лактококков показало, что они расщепляют β-казеин с образованием пептидов, включающих фрагменты с горьким вкусом; изученные протеиназы этих подвидов лактококков мало отличались друг от друга [736]. Протеиназы клеточных стенок лактококков, в отличие от лактобацилл, не действуют на α-казеин; только 20–28% штаммов *Lc. cremoris*, выделенных из заквасок, расщепляли β-казеин [352, 611].

Исследование расщепления белков пастеризованного молока лактококками при 30° С в течение 10 сут показало, что они образуют сравнительно небольшое количество водорастворимого азота (16,5–19,8% от общего азота). Количество водорастворимого азота после 7-суточного выращивания молочного и диацетильного лактококков в пастеризованном молоке при 26° С составило 6,4–7,7% [1433]. Молочный лактококк обладал меньшей протеолитической активностью, чем сливочный и диацетильный [1590, 1591]. Следует иметь в виду, что протеолитическая активность диацетильного лактококка в большой степени зависит от штамма (табл. 3.4).

Обычно штаммы *Lc. cremoris* с высокой кислотообразующей активностью имели также сравнительно высокую протеолитическую активность [1101]. Однако большинство авторов отрицает наличие тесной корреляции между протеолитической и кислотообразующей активностями лактококков.

Микрофлора лактококковых заквасок обладает по сравнению с молокосвертывающими энзимами более низкой активностью по отношению к казеину, поэтому основная часть водорастворимого азота в мелких сырах образуется в результате действия молокосвертывающих энзимов [1135]. В отношении образования аминокислот и пептидов с низкой молекулярной массой наблюдается обратная картина. Активность лактококков по образованию аминного азота была выше, чем по гидролизу казеина: разрушенные ультразвуком клетки молочного лактококка при pH 7,0 и 30° С через 50 ч превратили в водорастворимый белок 12% казеина молока, 65,8% которого составлял растворимый в фосфорновольфрамовой кислоте азот свободных аминокислот [545, 588].

Протеиназы, связанные с клеточной стенкой, имеют также лактобациллы и лейконостоки. Лактобациллы обычно образуют нейтральные протеиназы клеточной стенки, активные по отношению к α-, β- и $\varkappa$-казеинам, но специфичность их действия существенно зависит от вида и штамма продуцента. В клеточной стенке *Lbc. helveticus* есть одна протеиназа с оптимальными pH 7,5–8,0 и температурой 42° С, которая не гидролизует β-казеин и только частично гидролизует α_s-казеин [1181]. Протеиназы *Lbc. lactis* и *Lbc. bulgaricus* гидролизуют оба казеина [287]. По другим данным, штаммы *Lbc. helveticus*, *Lbc. bulgaricus*, *Lbc. lactis* и *Lbc. casei*, выделенные из сывороточных заквасок для производства сыра Грана, сильно отличались по протеолитической активности [698]. *Lbc. helveticus* обладала максимальной протеолитической активностью по отношению к α-казеину, но при этом слабо атаковала β-казеин; *Lbc. lactis* атаковала только β-казеин, остальные два вида и некоторые штаммы *Lbc. helveticus* вообще очень слабо атаковали казеин. По результатам опытов Bottazzi, 80–90% штаммов термофильных лактобацилл, выделенные из сывороточных заквасок для производства крупных сыров, не обладали активностью к казеину [107]. Morelli et al. показали, что низкая протеолитическая и кислотообразующая активность штаммов *Lbc. helveticus* связаны с потерей ими плазмиды 3,5 МД [743]. Лактобациллы и термофильный стрептококк проявляют протеолитическую активность при температуре от 15 до 45° С [359].

Протеиназная активность лейконостоков низкая, что является причиной их медленного развития в молоке в чистых культурах [180].

Протеиназная активность термофильного стрептококка зависит от штамма. В обезжиренном молоке с мелом при выращивании штаммов термофильного стрептококка при оптимальной температуре доля α_{s1}-казеина за 48 ч снизилась с 30 до 26%, содержание аминного азота за 30 сут повысилось от 0,10 до 0,16% [1359]. Однако другие штаммы термо-

фильного стрептококка, выделенные из сывороточных заквасок для производства сыра Грана, обладали выраженной протеолитической активностью к казеину только в присутствии реннина и протеиназ молока [698]. Это можно объяснить тем, что они гидролизовали не нативные казеины, а крупные пептиды, образуемые из нативных белков реннином и протеиназами молока.

У лактококков и лактобацилл имеются *внутриклеточные протеиназы*, локализованные в цитоплазме, основной функцией которых является синтез бактериального белка (в зависимости от условий среды протеиназы катализируют расщепление или биосинтез белков). Внутриклеточные протеиназы принимают участие в созревании сыров после лизиса бактериальных клеток [607]. Внутриклеточная протеиназа *Lc. cremoris* наиболее активно расщепляет α_s-казеины: количество гидролизованных α- и $\varkappa$-казеинов, оцениваемое по содержанию сиаловых кислот, составило соответственно: для внутриклеточной протеиназы *Lc. cremoris* – 69 и 9%, для реннина – 13 и 45% [794]. Активность внутриклеточной протеиназы лактококков у различных штаммов может различаться в 2,5 раза [522]. Активность протеиназ лейконостоков ниже, чем лактококков [687].

Лактобактерии образуют большое количество пептидаз. Отдельные пептидазы выделяются в среду для расщепления высокомолекулярных пептидов до более мелких пептидов и свободных аминокислот, которые могут быть перенесены внутрь клетки [233, 611]. На клеточных стенках лактококков локализованы две пептидазы, одна из них гидролизует только трилейцин, вторая – широкий спектр ди- и трипептидов [571]. У *Lc. lactis* и *Lc. cremoris* обнаружены также 3 внутриклеточные пептидазы, одна из которых гидролизовала трилейцин, две имели широкий спектр действия [571]. Образование САК лактококками было одинаковым в интервале pH от 7,0 до 5,6; при 30° С оно шло быстрее, чем при 40° С [687]. Протеолитическая активность *Lc. diacetylactis* выше, чем *Lc. cremoris*, *Lbc. helveticus* – выше, чем лактококков [1370, 1433]. В сырах более полное расщепление казеина наблюдали при использовании в качестве лактококковой закваски диацетильного лактококка [235]. Закваски из смеси подвидов лактококков обладают более сильной протеолитической активностью, чем закваски на чистых культурах *Lc. cremoris* [59].

Самой высокой аминопептидазной, дипептидазной и протеиназной активностью обладают штаммы *Lbc. helveticus*, самой высокой β-галактозидазной активностью – *Lbc. bulgaricus* [330]. Включение болгарской палочки в закваски для производства крупных сыров в дозах 0,5–1000 мл/200 кг молока стимулировало образование пролина; в больших количествах она угнетала рост пропионовокислых бактерий [90].

Протеолитическая активность *Lbc. casei* по отношению к α_s-казеину в совместных культурах с лактококками была в 5,8 раза выше, чем в чистой культуре, по отношению к β-казеину она не изменилась [647]. У штаммов термофильного стрептококка среди внутриклеточных энзимов обнаружены лейцинаминопептидаза, пролилдипептидазы, эн-

допептидаза [234]. Внутриклеточные энзимы термофильного стрептококка гидролизовали β- и $\varkappa$-казеины.

Внутриклеточные пептидазы высвобождаются в результате лизиса бактериальных клеток и участвуют в созревании сыров. Хотя оптимальный pH для пептидаз лежит в нейтральной или слабощелочной области, они сохраняют достаточную активность при pH мелких сыров [114, 176].

Исследование протеолитической активности в гидролизованном молоке с реннетом лактококков, *Lbc. helveticus* и *Prb. shermanii* в соотношении 3:1:0,1 (экзоферменты) и экстрактов из разрушенных ультразвуком клеток (эндоферменты) в этом же отношении выявило низкую активность экзоферментов и отсутствие активности эндоферментов при 10° С, увеличение активности экзоферментов при повышении температуры до 22° С в 3,1 раза; активность эндоферментов при 22° С была такой же, как у экзоферментов [1555]. Повышение pH среды с 5,0 до 5,6 повысило активность экзоферментов в 10,4 раза, эндоферментов – в 9,2 раза.

Протеолитическая активность лактококков и лактобацилл в обезжиренном молоке сильно ингибируется добавлением 6% соли [1157].

Штаммы *Lc. cremoris* гидролизуют пептиды с разной скоростью, хотя в бесклеточных экстрактах скорость гидролиза примерно одинакова [113, 114], что объясняется неодинаковыми скоростями транспортировки пептидов в клетки у разных штаммов. Активность внутриклеточных протеиназ и пептидаз сохраняется после тепловой обработки при 50° С в течение 2,5 ч [806].

Протеолитическая активность термофильных и мезофильных молочнокислых бактерий в стерилизованном обезжиренном молоке с нейтрализацией образующейся кислоты мраморной крошкой при оптимальных температурах показана на рисунках 11.3; 11.4 и 11.5 [1765]. Из изученных культур наибольшей протеолитической активностью обладали *Lbc. helveticus* и *Lbc. casei*, наименьшей – термофильный стрептококк.

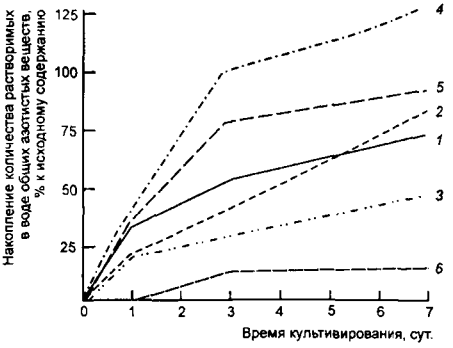


Рис. 11.3. *Накопление растворимых в воде общих азотистых веществ в культуральных средах термофильных молочнокислых бактерий: 1 – Lbc. acidophilus; 2 – Lbc. bulgaricus; 3 – Lbc. plantarum; 4 – Lbc. helveticus; 5 – Lbc. casei; 6 – Str. thermophilus*

Степень гидролиза казеина обезжиренного молока с мелом и сычужным порошком через 10 сут культивирования термофильного стрептококка, *Lbc. lactis* и *Lbc. helveticus* в зависимости от вида и штамма варьировала от 9 до 37%; штаммы стрептококка гидролизовали не более 20% казеина с образованием продуктов с длинной цепью, лактобациллы характеризовались более глубоким гидролизом казеина [1218].

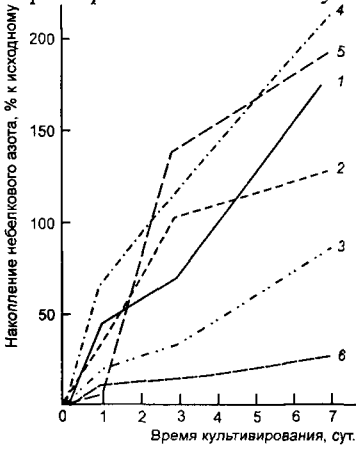


Рис. 11.4. *Накопление небелкового азота в культуральных средах термофильных молочнокислых бактерий: 1 – Lbc. acidophilus; 2 – Lbc. bulgaricus; 4 – Lbc. plantarum; 4 – Lbc. helveticus; 5 – Lbc. casei; 6 – Str. thermophilus*

Представляет интерес влияние молокосвертывающих энзимов на протеолитическую активность лактококков. В табл. 11.5 представлены результаты опытов Вязниковой и др. по изучению влияния молокосвертывающих энзимов на протеолитическую активность *Lc. lactis* в обезжиренном молоке (время инкубации 10 сут, температура 30° С) [1260]. Из этих данных видно, что в культурах лактококка в присутствии пепсинов, по сравнению с их культурами в молоке без добавления энзимов, произошло снижение количества водорастворимого азота на 50,2–45,2% и свободных кислот на 53,4–63,8%, а количество небелкового азота возросло на 20,2–42,4%, в то время как в присутствии реннета увеличилось содержание всех фракций: водорастворимого азота – на 21, небелкового азота – на 13,9 и аминного – на 104,8%. В варианте с реннетом увеличение количества водорастворимого и небелкового азота произошло в результате энзиматической реакции, а увеличение содержания аминного азота является результатом резкого повышения протеолитической активности лактококка в присутствии реннета. Пепсины в условиях опыта, по-видимому, не проявили или проявили незначительную казеолитическую активность, а снижение содержания аминного азота говорит об использовании культурой низкомолекулярных пептидов и аминокислот для синтеза собственных белков.

Сычужный порошок по-разному влияет на протеолитическую активность различных подвидов лактококков [1433]. Лактококки атакуют параказеин и в отсутствие молокосвертывающих энзимов, даже после

гибели клеток [1135], что свидетельствует об участии в этом процессе эндоферментов.

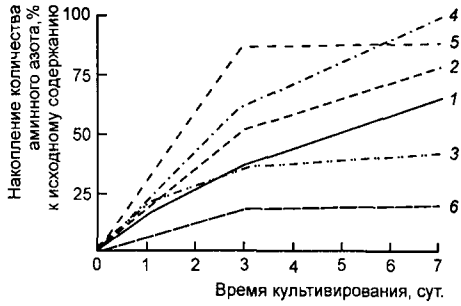


Рис. 11.5. *Накопление аминного азота в культуральных средах термофильных молочнокислых бактерий: 1 – Lbc. acidophilus; 2 – Lbc. bulgaricus; 4 – Lbc. plantarum; 4 – Lbc. helveticus; 5 – Lbc. casei; 6 – Str. thermophilus*

11.5. Влияние молокосвертывающих энзимов на протеолитическую активность Lc. lactis в обезжиренном молоке

Среда	Содержание N, мг/%		
	водорастворимый	небелковый	аминный
Обезжиренное молоко	200,8	224,6	44,2
Обезжиренное молоко + реннет, 25 мг/л	243,0	256,0	90,5
Обезжир. молоко + свиной пепсин	100,0	270,0	20,6
Обезжир. молоко + говяжий пепсин	110,0	320,0	16,0

Таким образом, лактобактерии обладают достаточной протеолитической активностью для расщепления совместно с реннином казеинов до свободных аминокислот. Специфичность действия их протеолитических систем зависит от вида и штамма и значительно варьирует.

Лактобактерии обладают фосфомоноэстеразной активностью, которая является штаммовым признаком [1650]. Этот тип энзиматической активности может иметь значение при расщеплении фосфопептидов, образующихся в сырах в процессе протеолиза и, возможно, причастных к образованию горечи. Роль фосфомоноэстераз лактобактерий в сырах не изучена.

Липолитическая активность

Липиды не являются источниками энергии для микрофлоры заквасок, и наличие у нее очень слабой липолитической активности обусловлено ее биосинтетическими нуждами [1658, 1709]. Несмотря на слабую липолитическую активность микрофлоры заквасок, липолиз в созревающих сырах играет важную роль и осуществляется микрофлорой за-

кваски в большинстве сыров. Небольшая липолитическая активность микрофлоры закваски компенсируется высокой концентрацией их клеток и продолжительным созреванием сыров, а также низким вкусовым порогом продуктов липолиза (табл. 11.15).

Исследована липолитическая активность *Lbc. lactis* (5 штаммов), лактобацилл (3 штамма), лейконостоков (3 штамма), пропионовокислых бактерий (3 штамма) [1658]. Количество свободных жирных кислот (СЖК), образуемых в 10 %-ной эмульсии триглицерида масляной кислоты в течение часа при 37° С (мкМ/мг клеточной ДНК), у молочнокислых палочек было ниже 1,0, у других видов – от 2,3 до 33. Ни один штамм не образовывал внеклеточной липазы. Таким образом, виды и штаммы лактобактерий сильно различались по интенсивности гидролиза трибутирина. Наибольшая активность оказалась у *Leuc. dextranicum*, минимальная – у *Lbc. acidophilus*.

Содержание летучих СЖК (мл 0,01 н NaOH/50 г сгустка), образованных в стерильном восстановленном молоке при 22 и 30° С за 18 ч равнялось: у *Lc. cremoris* 6,0 и 8,4; у *Lc. diacetylactis* – 22,5 и 22,7; *Lc. lactis* – 6,4 и 8,2 [263]. Комбинации сливочного лактококка с диацетильным или лейконостоками образовывали больше СЖК, чем его чистая культура [1101]. Содержание летучих СЖК, образуемых культурами в обезжиренном молоке в течение 18 ч при 37 и 42° С, равнялось: для *Str. thermophilus* – 5,0 и 7,3; для *Lbc. casei* – 6,5 и 4,5; для *Lbc. helveticus* – 4,8 и 2,5; для *Lbc. bulgaricus* – 23 и 26; для *Lbc. plantarum* – 6,8 и 7,4.

Yu et al. и Kamaly et al. обнаружили липазы у *Lbc. casei*, *Lbc. helveticus*, *Lbc. plantarum*, *Lbc. acidophilus*, *Lc. lactis*, лейконостоков, но не нашли у термофильного стрептококка, *Lc. cremoris*, *Lbc. bulgaricus*; pH оптимальный для липаз лактобактерий – около 7,0, оптимальная температура – 37° С [521, 1178]. В то же время Гриневич и Ермаков выделили штаммы термофильного стрептококка с высокой липолитической активностью [1287], а Kamaly et al. считают, что липолитическая активность *Lc. cremoris* выше, чем *Lc. lactis* [521]. Следовательно, липолитическая активность является штаммовым и видовым признаком. Штаммы, культивируемые в молоке, обычно обладают более высокой липолитической активностью [840]. Штаммы с высокой липолитической активностью отличались от штаммов с низкой активностью более высокой способностью к кислотообразованию и образованию CO_2, повышенными редуцирующей и протеолитической активностями [1221].

Гобетти и др. обнаружили эстеразную и липолитическую активность у лактобацилл [1272]. Эстеразная активность термофильных палочек была выше, чем мезофильных, липолитическая активность по отношению к молочному жиру была наибольшей у *Lbc. plantarum* и *Lbc. casei*. Эстеразы у большинства видов только внутриклеточные.

Lbc. casei в присутствии Мезентерина в смесях с казеином образовывали изо- и н-валериановую, н-капроновую и н-каприловую кислоты; лактококковая закваска в этих же условиях образовывала больше уксусной, пропионовой, изо- и н-масляной кислот [1545].

Уманский и Боровкова изучали липолитическую активность лактококков, термофильного стрептококка, термофильных лактобацилл и пропионовокислых бактерий, культивируемых в обезжиренном молоке в течение 7 сут [1709]. Липолитическую активность оценивали по увеличению содержания СЖК как высокую (прирост содержания СЖК 4%), среднюю (2,0–3,5%) и низкую (1,5%). Образование летучих СЖК исследованными культурами в молоке коррелировало с их образованием в Советском сыре, выработанном с закваскими из этих культур; качество сыра было выше при использовании заквасок с высокой липолитической активностью.

Лактобактерии обладают фосфолипазной активностью (ФЛА). Высокой ФЛА обладали 47% исследованных штаммов лейконостоков, средней – 77% штаммов диацетильного лактококка и 62% штаммов молочного лактококка, 58% штаммов сливочного лактококка обладали низкой активностью [1714]. Фосфолипаза, гидролизуя оболочки жировых шариков, обеспечивает доступность липидов для липаз лактобактерий и интенсифицирует липолиз. В сырах, выработанных с закваской с высокой ФЛА, повышается содержание СЖК с C_{18}, C_{19} и C_{20}. Сыр Костромской лучшего качества получен при минимальной ФЛА и максимальной липолитической активности микрофлоры [1712]. В сырах с высокой ФЛА появляется горький и посторонний вкус.

Сбраживание лактозы

Считается, что созревание сыра начинается после окончания сбраживания основной массы углеводов, которое в твердых сырах при нормальном ходе выработки соответствует окончанию посолки. При неправильном подборе микрофлоры закваски для крупных сыров, когда термофильный стрептококк и термофильные лактобациллы не сбраживают или медленно сбраживают галактозу, она может оставаться несброженной вплоть до помещения сыра в теплую камеру и служить источником энергии для посторонней микрофлоры. Задержка сбраживания галактозы приводит к тому, что pH сыра поддерживается на более высоком уровне, что также способствует развитию посторонней микрофлоры. Все это приводит к ухудшению органолептических показателей продукта, при этом степень ухудшения зависит от того, какая микрофлора сбродит галактозу. Такая же ситуация может возникнуть в мелких сырах при включении в состав их заквасок штаммов термофильных стрептококков, например, при производстве Чеддера по ускоренной технологии [603]. Особенно опасно снижение активности заквасок под действием бактериофага.

Трансформация продуктов гидролиза компонентов молока и цитратов

Главные продукты гликолиза (молочная и уксусная кислоты, CO_2), протеолиза (низкомолекулярные пептиды, свободные аминокислоты) и липолиза (СЖК, спирты) формируют основной вкусовой фон сыров. Кроме этого, они являются предшественниками образования других вкусовых

и ароматических веществ сыров, например, карбонильных соединений, имеющих низкий вкусовой порог и играющих определенную роль в формировании вкусового букета сыров. Так, аминокислоты могут подвергаться дезаминированию, заключающемуся в отщеплении α-аминогруппы, с образованием различных кето-, окси- и карбоновых (пировиноградной, пропионовой, α-кетоглутаровой, янтарной, изомасляной, изовалерьяновой, яблочной и др.) кислот [1277]. Образующиеся при этом кетокислоты могут декарбоксилироваться до соответствующих альдегидов (изовалерьянового, изомасляного, ацетальдегида, фенилуксусного и др.). Альдегиды могут восстанавливаться в соответствующие спирты. Образующийся при дезаминировании аммиак идет на синтез амидов дикарбоновых кислот – глутамина и аспарагина. В результате декарбоксилирования аминокислот образуются соответствующие амины и CO_2. Схема катаболизма аминокислот, по Hemme et al., приведена на рис. 11.6 [1748].

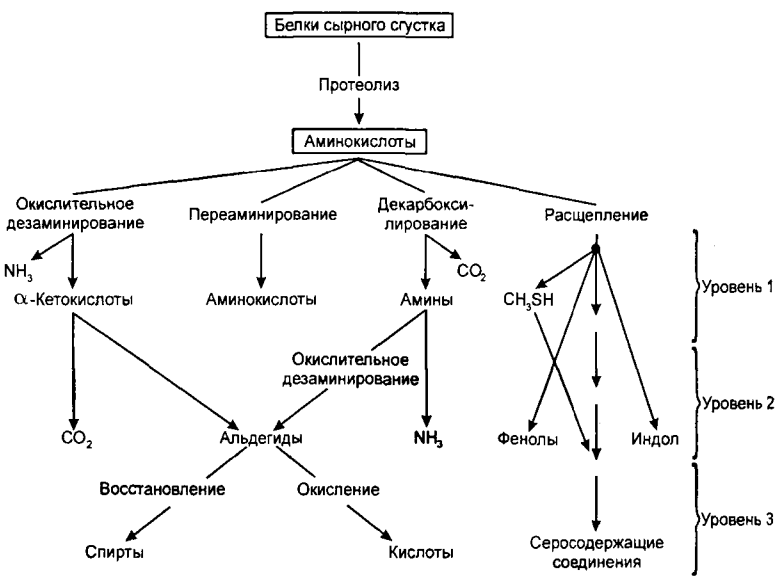


Рис. 11.6. *Общая схема микробного катаболизма аминокислот в процессе созревания сыра*

Многочисленным преобразованиям с образованием ароматических веществ могут подвергаться и продукты гидролиза липидов – свободные жирные кислоты и глицерин, а также фосфолипиды.

Образование вкусовых и ароматических веществ из продуктов гидролиза основных компонентов молока и цитратов происходит энзиматическим и чисто химическим путем. Способность различных видов и штаммов микрофлоры заквасок образовывать необходимые для этих реакций

энзимы изучена совершенно недостаточно. Однако, тот факт, что сыры с низкими температурами II нагревания с типичным вкусом и ароматом в асептических условиях можно выработать, используя из микроорганизмов только лактококки, а крупные сыры – с использованием микрофлоры заквасок и пропионовокислых бактерий [331, 561, 622, 799, 1135], свидетельствует о способности микрофлоры заквасок образовывать весь комплекс энзимов, необходимых для синтеза вкусовых и ароматических веществ сыра. Но часто сыры, вырабатываемые в асептических ваннах только с участием микрофлоры заквасок, имеют менее выраженный вкус, чем контрольные, вырабатываемые в открытой ванне. Это может быть следствием недостаточной способности микрофлоры заквасок или части ее штаммов образовывать вкусовые и ароматические вещества.

Определенное значение в формировании органолептических показателей сычужных сыров, особенно с низкой температурой II нагревания, а также кисломолочных сыров имеет ферментация цитратов. Основные и промежуточные продукты ферментации цитратов принимают непосредственное участие в этом процессе и могут стать компонентами или предшественниками в образовании других веществ, влияющих на качество сыров.

В мезофильных заквасках для выработки сыров с низкими температурами II нагревания цитраты сбраживают в присутствии ферментируемого углевода диацетильный лактококк или лейконостоки с образованием диацетила, ацетоина, ацетата, 2,3-бутиленгликоля, CO_2. Энзимы, вовлекаемые в ферментацию цитрата, у диацетильного лактококка – конституционные, у лейконостоков – индуцибельные. Возможные пути метаболизма цитратов приведены Горбатовой [1277]. Диацетильный лактококк ферментирует цитраты с образованием диацетила и ацетоина с самого начала своего роста [180]. Большинство штаммов этого подвида образует больше ацетоина, чем диацетила, причем отношение содержания ацетоина к содержанию диацетила может достигать 43:1. Максимальное количество образуемого диацетильным лактококком в молоке ацетоина равно, по Cogan, 3 мМ (264 мг/кг), диацетила – 0,1 мМ (8,6 мг/кг) [178]. По данным Горбатовой, большинство штаммов диацетильного лактококка образует в молоке до 12 мг/кг диацетила (некоторые – до 50 мг/кг) и около 500 мг/кг ацетоина, лейконостоки – соответственно 5 и 85 мг/кг [1277]. Только штаммы с достаточно высокой способностью к синтезу ацетил-КоА и пониженной активностью ацетоиндегидразы синтезируют большие количества диацетила. Из лактозы диацетильный лактококк не образует диацетила, CO_2 и ацетоина.

Лейконостоки ассимилируют цитраты без образования диацетила и ацетоина при нейтральном pH и с образованием этих соединений при pH меньше 5,5. Оптимальный pH для синтеза диацетила равен 5,4 [180]. Добавление в среду небольшого количества глюкозы (5мМ) увеличивает скорость ферментации цитрата лактококками, но полностью подавляет синтез ацетоина. В отличие от диацетильного лактококка, лейконостоки образуют CO_2 не только из цитратов, но и из лактозы. Ферментация

цитратов завершается во время выработки сыра, но если они на этом этапе не будут сброжены, то это влияет на последующее созревание сыра. Закваски с диацетильным лактококком быстрее ферментируют цитраты, чем закваски с лейконостоками, но образование первыми CO_2 зависят от действия бактериофага.

Промежуточным продуктом метаболизма цитратов является ацетальдегид, который в заметных количествах может накапливаться в культурах диацетильного лактококка. Лейконостоки сами утилизируют ацетальдегид. Высокое содержание ацетальдегида может быть причиной образования «зеленого» («резкого») привкуса в ферментированных молочных продуктах [105, 615]. В хороших закваскаx отношение количества диацетила к количеству ацетальдегида должно быть не меньше 4:1 [105]. Часть ацетальдегида микрофлорой закваски трансформируется в этанол, который сам по себе не влияет на вкус и аромат сыра, но, вступая в реакции с СЖК, может вызвать пороки сыров. Больше всего спирта образуется в культурах лейконостоков [615].

Выделенные из заквасок штаммы лактококков образовывали неодинаковое количество карбонильных соединений (мкг/кг): *Lc. cremoris* – 6,7–32,8; *Lc. lactis* – 17,0–46,7; *Lc. diacetylactis* 11,8–61,5; лейконостоки – 4,6 [1128]. Коллекционные штаммы *Lc. cremoris* образовывали 4,8–23,7, *Lc. lactis* – 9,5–46,7, *Lc. diacetylactis* 15,4–85,2 мкг/кг карбонильных соединений. Чеддер, выработанный только со штаммами *Lc. cremoris*, получил наивысшую оценку, на втором месте стояли сыры, выработанные на закваскаx из штаммов лейконостоков, *Lc. lactis* и *Lc. cremoris*, в которых отмечен слабовыраженный «фруктовый» привкус, и минимальную оценку получили сыры, выработанные на закваскаx, в которых доминировали штаммы *Lc. lactis* и *Lc. diacetylactis*, из-за выраженного порока «фруктовый» вкус и аромат. Авторы считают, что закваски для Чеддера не должны образовывать больше 20 мкг/кг карбонильных соединений.

Диацетильный лактококк образует ацетаты из аланина, глицина и серина, пропионаты из треонина, изобутираты из валина, изовалериаты из изолейцина и лейцина путем окислительного дезаминирования [331]. Карбоновые кислоты при наличии в сыре спиртов могут образовывать эфиры, придающие различные привкусы продукту. Многочисленные минорные компоненты метаболизма диацетильного лактококка и лейконостоков в низких концентрациях усиливают выраженность сырного вкуса мелких сыров, но при высоком их содержании они вызывают пороки продукта. В связи с этим их количество в закваскаx и сырах должно контролироваться.

Lbc. bulgaricus, *Lbc. helveticus* и термофильный стрептококк не утилизируют цитраты; пируват – промежуточный продукт метаболизма углеводов и цитратов – используется болгарской палочкой и термофильным стрептококком [435, 1096].

Соединения, получаемые в результате биотрансформации продуктов гликолиза, протеолиза и липолиза, могут как улучшать, так и ухудшать органолептические показатели сыров.

11.2.5. Роль вторичной микрофлоры сыра

Микрофлору, размножающуюся в твердых сырах после окончания сбраживания основной массы лактозы, в отличие от микрофлоры заквасок, иногда называют вторичной. Можно выделить три основных группы вторичной микрофлоры:

- молочнокислые бактерии, не входящие в состав бактериальных заквасок и попадающие в сыр с молоком и из внешней среды;
- пропионовокислые бактерии, которые принимают активное участие в созревании сыров с высокой и средней температурой II нагревания;
- маслянокислые бактерии.

Определенную роль в созревании некоторых зарубежных твердых сыров с низкими и высокими температурами II нагревания играет микрофлора сырной слизи, но на российских сырах этого класса она не культивируется. Развитие поверхностной микрофлоры вызывает различные пороки сыра. Современная технология позволяет исключить развитие поверхностной микрофлоры, и поэтому в данном разделе она не рассматривается.

Незаквасочные молочнокислые бактерии в качестве источников энергии используют остатки лактозы, которые по каким-либо причинам, например, в результате действия бактериофага, не были сброжены микрофлорой закваски, галактозу, углеводы, высвобождающиеся при гидролизе казеина и лизисе клеток заквасочных микроорганизмов [331]. Пропионовокислые и маслянокислые бактерии используют как источник энергии лактаты. Развитие вторичной микрофлоры, кроме пропионовокислых бактерий, в сырах с высокими и средними температурами II нагревания чаще всего, но не всегда, сопровождается снижением качества или порчей сыра.

Другие группы микрофлоры при соблюдении технологических и гигиенических требований не могут размножаться в твердых сырах до опасных количеств из-за комбинированного действия анаэробных условий, отсутствия или низких концентраций углеводов, достаточно высоких значений титруемой и активной кислотности, специфического антагонизма молочнокислых бактерий.

Молочнокислые бактерии

Лактобактерии незаквасочного происхождения всегда есть в сырах. Их вклад в формирование органолептических показателей сыра зависит от вида, штамма, исходного количества, которое, в свою очередь, обусловлено уровнем гигиены и соблюдением технологии производства.

Мезофильные лактобациллы. Главными представителями лактобактерий незаквасочного происхождения являются мезофильные молочнокислые палочки. Выработка сыров в асептических условиях и многолетняя практика сыроделия показывают, что в зависимости от

количества, видового и штаммового состава мезофильные лактобациллы могут оказывать и положительное, и отрицательное влияние на качество сыров с низкими температурами II нагревания [331, 796, 1295]. Положительное влияние состоит в ингибировании развития маслянокислых бактерий, повышении выраженности сырного вкуса, уменьшении опасности появления горечи [965, 1295].

Мезофильные лактобациллы при достаточно больших количествах в сыре в зависимости от вида и штамма могут быть причиной появления нечистого, броженого, дрожжевого, горького, металлического вкуса и привкусов, самокола и щелевидного рисунка. Одним из наиболее распространенных дефектов сыров, вызываемых лактобациллами при излишнем развитии в сырах, является пряный вкус. Солеустойчивые гетероферментативные молочнокислые палочки вызывают растрескивание поверхности сыра (гл. 12). Солеустойчивые штаммы *Lbc. plantarum* могут быть причиной таких пороков, как фекальный и гнилостный запах, мучнистая консистенция. Однако чаще всего пороки в сырах с низкими температурами II нагревания вызывают гетероферментативные лактобациллы [1007].

Описан случай позднего вспучивания сыра Сбринц, вызванного *Lbc. fermentum* и пропионовокислыми бактериями [316]. Показательно, что в дефектном сыре содержание лактобацилл достигло 10^9 КОЕ/г при высоком pH, что свидетельствует о неудовлетворительном сбраживании лактозы во время выработки сыра.

Lbc. buchneri и некоторые другие виды лактобацилл обладают большой декарбоксилазной активностью и образуют в сырах амины, которые при высоких концентрациях вызывают пищевые отравления [509, 511, 1051]. *Lbc. plantarum* и *Lbc. casei* – представители заквасок – амины в сырах не образуют.

Внезаквасочные мезофильные лактобациллы не приносят ущерба качеству сыров с низкими температурами II нагревания, если их количество в сырах 2-недельного возраста не превышает $2 \cdot 10^6$ КОЕ/г [783, 1007]. Для предупреждения излишнего развития мезофильных лактобацилл следует использовать активные закваски лактококков и лейконостоков, разбавлять сыворотку водой, контролировать содержание солеустойчивых лактобацилл в рассоле.

По предложению ВНИИМС в некоторые закваски для производства сыров с низкими температурами II нагревания вводят штаммы мезофильных лактобацилл, обладающие специфическим антагонизмом по отношению к посторонней микрофлоре [1295]. Благодаря более высокому содержанию в сырах в начале созревания они вытесняют «дикие» штаммы лактобацилл из имеющейся в сырах экологической ниши для молочнокислых палочек или ограничивают их размножение и тем самым предупреждают появление пороков сыра, которые могут вызвать «дикие штаммы». Успех этого метода обеспечивается тщательным подбором штаммов молочнокислых палочек и строгим контролем количества их клеток в закваске, которое не должно быть слишком высоким.

Во время максимального развития их количество не должно превышать 10^8 КОЕ/г. Мезофильные лактобациллы в составе заквасок сейчас начали применять во многих странах [244, 965].

При выработке крупных сыров мезофильные лактобациллы сбраживают лактозу, которую не успевает сбродить термофильная микрофлора закваски, прекращающая развитие при температуре ниже 18° С, и галактозу, остающуюся в сырной массе в результате гидролиза лактозы термофильным стрептококком, которая утилизируется не всеми видами и штаммами термофильных лактобацилл. Среди «диких» штаммов мезофильных лактобацилл могут быть штаммы, ингибирующие рост пропионовокислых и стимулирующие рост маслянокислых бактерий, вызывающие самокол (гетероферментативные виды) и другие пороки в сырах. Поэтому целесообразно для заполнения в крупных сырах экологической ниши для мезофильных лактобацилл, так же как при выработке мелких сыров, включать в состав заквасок специально отобранные штаммы мезофильных лактобацилл, биологически совместимые с пропионовокислыми бактериями и, желательно, ингибирующие рост маслянокислых бактерий, т. е. сделать процесс созревания более направленным [682]. Показательно, что в сыре Пармезан, вырабатываемом на термофильных заквасках, в зрелом возрасте из молочнокислых бактерий преобладает *Lbc. casei* [1093].

Энтерококки. В сырах всегда есть энтерококки, часть клеток которых выдерживает пастеризацию молока. При нормальной активности микрофлоры заквасок их количество в твердых сырах находится в пределах 10^6–10^7 КОЕ/г, что особого влияния на качество сыра не оказывает. Медленное сбраживание лактозы интенсифицирует развитие энтерококков в сыре. В Чеддере, вырабатываемом на заквасках, содержащих энтерококки, их количество увеличивается до $5 \cdot 10^8 - 1{,}4 \cdot 10^9$ КОЕ/г [316].

В разд. 3.2.8 приведены доказательства образования энтеротоксинов отдельными штаммами энтерококков. Энтерококки могут также образовывать в сырах токсичные амины. Исследование энтерококков, выделенных из 64 сыров из козьего молока прифермского производства, показало, что из них образовывали гистамин 41 (31,5%) штамм *Ent. faecium* и 2 (1,9%) штамма *Ent. faecalis* [1079]. Если в опытных сырах Чеддер, выработанных на обычной лактококковой закваске, количество тирамина составляло 4–87 мкг/г, то в сырах, выработанных на закваске *Ent. faecalis*, оно варьирует в пределах 333–1397 мкг/г [208]. Аромат был более выражен в сырах на энтерококковых заквасках. Некоторые авторы отмечали ускорение созревания сыра, выработанного на энтерококковых заквасках [208]. В то же время другие авторы отмечают корреляцию между количеством энтерококков и чувствительностью крупных сыров к позднему вспучиванию [316, 595]. *Ent. faecalis subsp. liquefaciens* при достижении критической биомассы образует горечь в сырах. Несмотря на некоторое положительное влияние энтерококков на органолептические показатели сыров, выработку и созревание сыров

нужно проводить так, чтобы количество энтерококков поддерживать на возможно более низком уровне.

Термофильный стрептококк. Термофильные стрептококки для мелких сыров являются нежелательной микрофлорой, так как их размножение приводит к образованию сетчатого рисунка, нечистого вкуса и может создать благоприятные условия для развития гетероферментативных лактобацилл за счет образования стрептококком свободной галактозы. Причинами развития термостойкого стрептококка в мелких сырах являются нарушения правил эксплуатации пастеризационных установок, высокие температуры посолки и созревания (разд. 3.2.6).

Педиококки. Благодаря высокой устойчивости к соли и кислоте, температурам II нагревания в сырах во второй половине созревания всегда размножаются педиококки, которые по численности занимают третье место после микрофлоры заквасок и лактобацилл (3.2.7). В сыре Чеддер их количество в период максимума может достигать 10^8 КОЕ/г.

У педиококков обнаружены очень активные лейцин- и валинаминопептидазы и липолитические энзимы с очень низкой активностью [147].

Итальянские ученые заметили, что крупные сыры с высоким содержанием педиококков менее подвержены позднему вспучиванию. Это может быть обусловлено трансформацией лактатов, что влияет на степень их использования маслянокислыми бактериями. Значение педиококков в формировании органолептических показателей сыров мало исследовано.

Пропионовокислые бактерии

Пропионовокислые бактерии – обязательный фактор созревания сыров с высокими и средними температурами II нагревания, за исключением терочных сыров. В сыре, выработанном по технологии Швейцарского сыра с термофильным стрептококком и *Lbc. helveticus,* вкус был нетипичным для этого вида сыра; добавление к этим видам пропионовокислых бактерий обеспечивало формирование типичного вкуса [824]. Однако некоторые ограничения в развитии этих бактерий в крупных сырах имеются. Нежелательно размножение пропионовокислых бактерий после выдержки сыров в теплой камере, что приводит к самоколу. Излишнее развитие пропионовокислых бактерий может привести к позднему вспучиванию крупных сыров [316].

Контроль развития пропионовокислых бактерий в крупных сырах осуществляют селекцией штаммов и видов, степенью посолки и температурой созревания. Пропионовокислые бактерии должны активно размножаться в сыре в теплой камере и не образовывать газ в сырах в холодной камере.

Участие энзимов пропионовокислых бактерий в липолизе и протеолизе в сырах начинается после лизиса их клеток, начало лизиса зависит от штамма [641]. У *Prb. freudenreichii* и *Prb. acidi* обнаружены штаммы с сильной и слабой липолитической активностью, у *Prb. jensenii* липолитическая активность не выявлена [1559]. Эти обстоятельства также следует учитывать при подборе пропионовокислых бактерий.

Следует контролировать не только скорость накопления биомассы пропионовокислых бактерий, но и условия для образования ими CO_2, ответственного за рисунок крупных сыров [963]. Сыры с одинаковым содержанием клеток пропионовокислых бактерий могут иметь нормальный рисунок или не иметь его совсем. Это обусловлено тем, что при ухудшении условий для развития пропионовокислых бактерий, например, при снижении активности воды, вначале ингибируется образование газа, затем размножение. Пропионовокислые бактерии, выращиваемые в молоке, при добавлении в среду до 4% соли через 20 ч инкубации продолжали размножаться, но на какое-то время перестали образовывать газ [834].

Пропионовокислые бактерии не обладают казеолитической активностью, но обладают пептидазной активностью с образованием большого количества свободного пролина [1029]. Они вызывают специфический липолиз, сопровождающийся образованием деценовой кислоты. Липолитическая активность их выше, чем у лактококков [1030]. Кроме пропионовой кислоты пропионовокислые бактерии образуют уксусную, небольшие количества масляной, изомасляной, валерьяновой и изовалерьяновой кислот и диацетила. Соотношение между продуктами метаболизма в значительной степени зависит от штамма [147]. Пропионовокислые бактерии обладают фосфолипазной активностью, которая может проявляться в крупных сырах [1512].

Для мелких сыров пропионовокислые бактерии являются нежелательной микрофлорой, так как придают им нетипичные вкус и рисунок. Размножение пропионовокислых бактерий в мелких сырах происходит при низком уровне посолки, повышенной температуре созревания.

Маслянокислые бактерии

Влияние размножения маслянокислых бактерий в Голландском сыре на его органолептическую оценку показано в табл. 6.18. Подробно оно рассмотрено в разд. 6.5.

11.3. Формирование органолептических показателей твердых сыров

11.3.1. Влияние химического состава

Химический состав влияет на органолептические показатели сыра непосредственно, а также через скорость и характер биохимических и микробиологических процессов.

Прочность белкового каркаса, а следовательно, твердость сыра, прежде всего, определяется содержанием в нем белка. Зависимость твердости от содержания белка показана на рис. 11.7 [167]. Из него видно, что для формирования непрерывной структуры содержание белка в сыре должно составлять не менее 25%. При более низком содержании белка сыр приобретает пастообразную консистенцию, и его головки начинают расплываться, особенно при повышенных температурах. На консистенцию громадное влияние оказывает содержание жира, за-

ключенного в ячейки белкового каркаса. Жир может увеличивать и твердость, и пластичность сыра. При температурах хранения около 5° С большинство глицеридов молочного жира находится в твердом состоянии, и жир увеличивает твердость сыра. Доля твердых глицеридов снижается при температурах больше 12–15° С, и жир начинает вести себя как жидкое тело, увеличивая пластичность сырной массы. При 35° С практически все глицериды переходят в жидкое состояние, и головки полножирных сыров при этой температуре расплываются. Отсюда правило: консистенцию сыра следует оценивать только при определенной температуре, чаще ее оценивают при температуре около 20° С. Сыры с низким содержанием жира имеют грубую, излишне твердую консистенцию. Увеличение содержания казеина на 13% в смеси для производства Литовского сыра (полужирный сыр) несколько улучшило его консистенцию и ускорило созревание [1603]. Объяснить это можно повышением влажности сыра, так как количество удерживаемой сыром влаги зависит от содержания в нем белка.

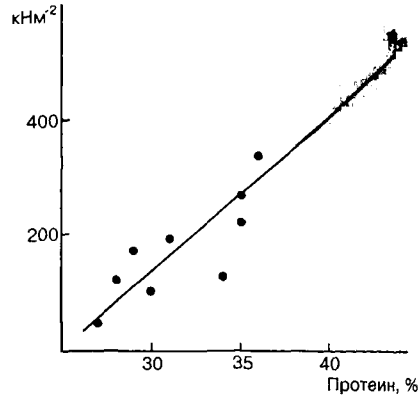


Рис. 11.7. *Соотношение между твердостью сыра и содержанием в нем белков*

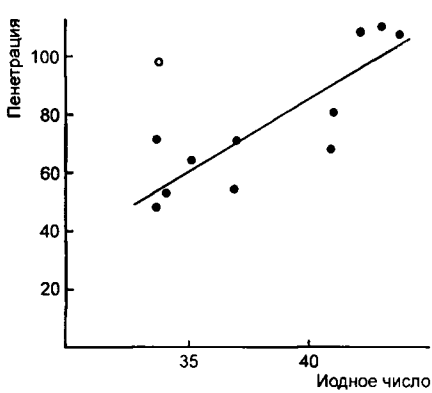


Рис. 11.8. *Изменение твердости сыра в зависимости от йодного числа* [845]

На консистенцию сыра влияет отношение между содержанием ненасыщенных и насыщенных глицеридов в исходном молоке, которое зависит от породы коров, кормления, сезона. Твердость сыра снижается (пенетрация повышается) при увеличении йодного числа (рис. 11.8) [845].

На твердость сыров влияет влажность. Водная фаза занимает все пространство сыра, не заполненное белком и жиром. Она выполняет роль как бы смазки между поверхностями белкового каркаса и жира, облегчая как деформацию, так и восстановление формы и размеров сыра по-

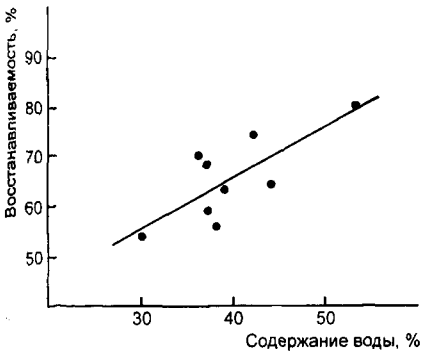


Рис. 11.9. *Взаимоотношение между упругостью (восстанавливаемостью) и содержанием влаги в сыре* [845]

сле снятия нагрузки [845]. Влияние содержания влаги на эластичность сыров показано на рис. 11.9 [167], на твердость – на рис. 11.10 [854]. Наименьшая эластичность у Пармезана, содержащего около 30% влаги, наибольшая – у Моцарелла с ~ 50% влаги. Для сыров с низкими температурами II нагревания оптимальное содержание влаги после прессования лежит в интервале 44–46%, в зрелом виде – 40–42%; в крупных сырах соответственно 38–40% и 36–39%.

На рис. 11.10 показана зависимость твердости сыров Эдам двух выработок, половина которых созревала при 9° С (затемненные символы), вторая – при 16° С (открытые символы), от содержания влаги. На рис. 11.11 показана твердость сыра в различных слоях одной головки, отличающихся содержанием влаги [845]. Твердость сыра снижается при увеличении содержания в нем влаги.

На формирование органолептических показателей сыра большое влияние оказывает отношение содержания влаги к содержанию казеина (или отношение влаги к СОМО), от которого зависит pH сыра, размножение микрофлоры, скорость энзиматических реакций. Оптимальное содержание влаги в обезжиренных веществах мелких сыров – 56–60%. Значение отношения содержания влаги к казеину или СОМО настолько велико, что даже незначительное его изменение оказывает сильное влияние на консистенцию и другие органолептические показатели сыров [603].

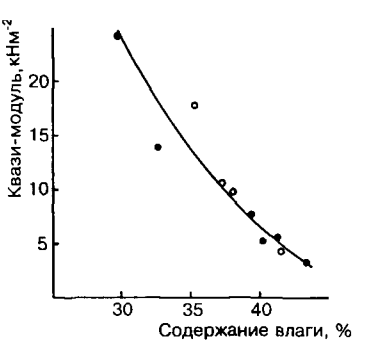


Рис. 11.10. *Связь между квазимодулем и содержанием влаги в сыре Эдам* [845]

Типичные вкус и аромат твердых сыров формируются при содержании в сухом веществе не менее 40% жира, а хорошо выраженные – при 50% [795, 885].

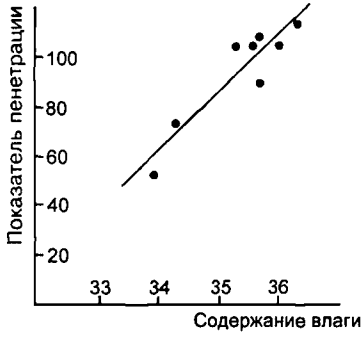


Рис. 11.11. *Изменение твердости сыра в зависимости от содержания влаги в различных слоях головки*

Вкусовые и ароматические вещества сыра большей частью растворены именно в липидной фракции [622]. Интенсивность вкуса и аромата сыра возрастает при повышении содержания жира только до определенного уровня [622]. Увеличение отношения казеина к жиру в молоке на 0,02–0,04 обычно вызывает снижение содержания жира в сухом веществе на 1% [243]. Замена части молочного жира растительными или минеральными жирами оказывает отрицательное влияние на специфические органолептические показатели сычужных сыров.

Лактоза содержится в сычужных сырах только на начальной стадии созревания, далее она сбраживается микрофлорой закваски с образованием в качестве основных продуктов молочной и небольших количеств уксусной кислоты. Органические кислоты создают основной вкусовой фон сыра – кисломолочный вкус. Излишек кислот делает вкус кислым, недостаток – пресным, невыраженным. От содержания кислот и уровня pH зависят в огромной степени протекающие при созревании микробиологические и биохимические процессы, вкус, аромат, консистенция и рисунок сыра. Мощное влияние pH на всех этапах производства на консистенцию мелких сыров продемонстрировали опыты Белоусова (табл. 11.6). Консистенция сыров с понижением pH становится менее связной, ломкой, крошливой. Однако диапазон pH в сырах со сходной консистенцией по Белоусову довольно широк, что обусловлено влиянием на консистенцию сыра не только pH, но и других факторов.

Активная кислотность сильнее влияет на консистенцию сыра, чем содержание Ca. При одном и том же содержании Ca консистенция сыра Чеддер в 35-суточном возрасте может быть от творожистой (pH больше 5,3), до воскообразной (pH 5,3–5,1) и мучнистой (pH меньше 5,1) [622].

Сыры без соли или с низким содержанием соли кажутся безвкусными, водянистыми. Однако, соль оказывает главное влияние на сыр через биохимические и микробиологические процессы во время созревания, о чем сообщается в разд. 10.6 и последующих разделах этой главы. О силе этого влияния свидетельствует такой факт: в сыре Моцарелла с низким содержанием соли (0,27%) за 5 недель созревания модуль сдвига снизился со 120 до 45 Н/м^2, а в сыре с 1% соли он не изменился [156].

11.6. Влияние pH на консистенцию мелких сычужных сыров [1226]

Этапы выработки	pH сыров					
	Консистенция сыра					
	Хорошая	Удовлетворит.	Грубая	Рыхлая	Ломкая	Самокол
Смесь	6,48	6,48	6,42	6,34	6,40	6,31
Конец обработки	6,42	6,38	6,27	6,24	6,16	5,90
После прессования	5,63	5,75	5,48	5,47	5,37	5,17
Семисуточный сыр	5,19	5,16	5,23	5,16		5,02
Двухмесячный сыр		5,32	5,24			5,10

Соль оказывает влияние на активность воды, развитие микрофлоры и степень гидратации белков. Медленная диффузия соли во внутренние слои головок при посолке сыров в рассоле является причиной изменений органолептических показателей в пределах головки.

Важно не столько абсолютное содержание соли, сколько ее содержание в водной фазе сыра, регулирующее микробиологические и биохимические процессы и оказывающее непосредственное влияние на структуру сыра (оптимальный уровень для мелких сыров 4,7–5,0%) [603, 1025]. Повышение этого показателя ингибирует развитие лактококков [624], замедляет протеолиз, увеличивает твердость сыра; снижение – создает благоприятные условия для развития посторонней микрофлоры и вызывает появление горечи. При содержании в водной фазе сыра Чеддер 4–5% соли не было гидролизовано по 5% α_{s1}- и β-казеинов, при 5–6% соли – 25 и 70%, при 8% – 50 и 95% [1586].

При высокой концентрации соли часть Са в матрице сыра может быть заменена Na, что снижает твердость и связность сырной массы [490]. Содержание соли в водной фазе оказывает более сильное влияние на консистенцию, чем содержание влаги, проявляется оно через активность воды [622]. В сыре Грюйер увеличение продолжительности выдержки сыра в рассоле замедлило протеолиз, обусловленный *Lbc. helveticus* [136].

На органолептические показатели сыра большое влияние оказывает концентрация Са в сырной массе. При низком его содержании консистенция сыров крошливая, малосвязная, при высоком – резинистая. Чем выше содержание Са, тем более твердой и эластичной становится консистенция [490]. По степени пластичности сыры располагаются в следующем порядке: Камамбер > Костромской > Советский, а по содержанию Са: Советский > Костромской > Камамбер.

На вкус сыра оказывает влияние степень насыщения его массы углекислым газом, выдержка мелкопорционированого сыра на воздухе быстро ведет к потере им типичного вкуса. По-видимому, это обусловлено тем, что вместе с CO_2 из сыра уходят летучие компоненты, ответственные за формирование аромата.

Показатели сырной массы меняются в ходе выработки. Существуют критические точки, в которых состояние сырной массы оказывает решающее влияние на качество сыра.

Активная кислотность (pH) сырной массы в конце обработки зерна определяет содержание в сыре Са и Р, количество реннета и плазмина, остающееся в сгустке; оказывает влияние на состав и структуру параказеина, формирование органолептических показателей. Оптимальный pH для сыров с низкими температурами II нагревания в этот период находится на уровне около 6,3 [1227]. Более низкий pH способствует потере сырной массой Са и Р и снижению ее буферности, повышает кислотность сыра в период минимума за счет изменения массообмена между сырной массой и сывороткой, снижает скорость протеолиза, ведет к формированию крошливой консистенции и самокола; более высокий pH увеличивает содержание Са в сыре, способствует формированию резинистой консистенции, создает более благоприятные условия для развития посторонней микрофлоры.

Активная кислотность (pH) сыра после прессования (в Чеддере после посолки) – важнейший индекс активности молочнокислого процесса во время выработки. Значения pH в этой точке регламентированы технической документацией на каждый вид сыра. Для мелких сыров оно лежит в интервале 5,5–5,7 [1430], для Российского сыра – 5,15–5,25. При более низком pH возникает опасность получения сыра с кислым вкусом и крошливой консистенцией, в сырах с более высоким pH более интенсивно размножается посторонняя микрофлора.

Минимальный pH. При нормальной скорости молочнокислого процесса во время выработки pH достигает минимума в сырах 1–7-суточного возраста. От этого показателя зависят биохимические, физико-химические и микробиологические процессы в созревающих сырах. Оптимальное значение минимального pH для мелких сыров – 5,2–5,3 (в сырах группы Российского – 5,15–5,20) [1227]. Более высокий pH ускоряет созревание, но улучшает условия для развития посторонней микрофлоры, более низкий pH замедляет протеолиз и изменяет состав его продуктов в нежелательном направлении. Различия в значениях pH в сырах после прессования и в точке минимума незначительны.

pH зрелого сыра. Оптимальный pH в зрелом возрасте для мелких сыров находится в пределах 5,3–5,4, для крупных – 5,5–5,7. Более низкий pH крупных сыров чаще всего свидетельствует о недостаточном развитии пропионовокислых бактерий.

11.3.2. Протеолиз и формирование органолептических показателей

Протеолиз в мелких сычужных сырах

Протеолиз – основополагающий процесс созревания сыров. Мелкие сычужные сыры отличаются меньшей шириной и глубиной протео-

лиза (табл. 11.7) [643]. Количество аминного азота в % от растворимого в мелких сырах (Сен-Полен) было в 2,06 раза меньше, чем в Грюйере. В отечественных мелких сырах, созревающих 60 сут, количество водорастворимого азота составляет 20–25% [1190], остальной азот представлен негидролизованными белками или белками с очень низкой степенью гидролиза, в т. ч. пара-$\varkappa$-казеином [1748].

11.7. Сравнительная характеристика протеолиза в сырах различного класса

Фракции азота	Камамбер	Сен-Полен	Грюйер де Комтэ
Растворимый, % от общего	31–34	16–21,0	28–32
Аминный, % от растворимого	9–12	13–18,5	32–37
Аммиачный, % от растворимого	21–27	2,7–7,5	10,5–14,5

Характер протеолиза в сырах с низкими температурами II нагревания изучен на сыре Гауда, выработанном в асептических условиях, позволяющих исключить тот или иной фактор из производства и выявить его роль в протеолизе [1134, 1135]. Накопление продуктов протеолиза в сырах, выработанных в асептических условиях, под действием отдельных главных факторов и их комбинаций показано в табл. 11.3, на рис. 11.12 и 11.13 [1135]. В сырах, выработанных с реннином и лактококковой закваской, α_{s1}-казеин практически полностью расщеплялся в течение месяца, в то время как 50% β-казеина не было расщеплено в течение 6 мес. Расщепление β-казеина с заметной скоростью началось спустя месяц после выработки. В сырах без закваски с доведением pH сгустка с помощью глюконо-δ-лактона (в результате гидролиза которого кислотность сыра медленно повышается, имитируя повышение кислотности и конечный pH, вызываемый развитием микрофлоры закваски) количество водорастворимого азота было намного ниже, чем в сырах с комплексом факторов; оно нарастало в течение 6 мес созревания пропорционально дозе вносимого реннина. В сырах, выработанных *без закваски*, в 1-, 2- и 6-месячном возрасте содержание азота свободных аминокислот составило соответственно 0,1; 0,2 и 0,3% от общего содержания азота в сыре, а в сыре *с закваскими*, но *без реннина* – соответственно 1,3; 2,3 и 4,0% (табл. 11.3). Таким образом, исключение заквасок уменьшило содержание свободных аминокислот в сыре примерно в 13 раз. В сырах без заквасок содержание свободных аминокислот не зависело от дозы реннина.

В сырах *без реннина* очень сильно уменьшилась скорость гидролиза α_{s1}-казеина и накопление водорастворимого при pH 4,6 азота. В сыре Гауда, выработанном без реннина, количество водорастворимого азота, образованного за счет протеолитических систем закваски (предполагая, что активность молочных протеиназ в сырах обоих вариантов была одинаковой), в 1-, 3- и 6-месячном возрасте составило 10,6; 12,7 и 19,5% от их количества в сырах, выработанных *с реннином*, но *без закваски*

[1135]. Исключение реннина сильно снизило количество свободных аминокислот, хотя в сырах без закваски реннин практически не образовывал свободных аминокислот. Объяснить это можно тем, что лактококки значительную часть свободных аминокислот образуют из продуктов протеолиза казеина реннином.

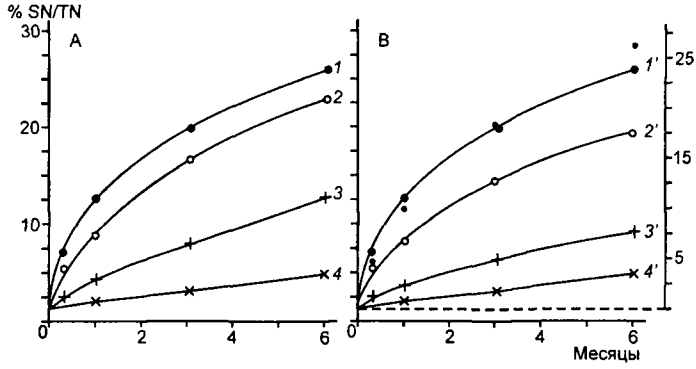


Рис. 11.12. *Образование растворимого азота во время созревания сыра Гауда, выработанного в асептических ваннах (А. 1 – с участием всех факторов; 2 – без применения закваски; 3 – без применения сычужного энзима; 4 – без применения заквасок и сычужного энзима. В. 1' – общий вклад; 2' – доля сычужного энзима; 3' – доля закваски; 4' – доля природных энзимов молока. SN – растворимый азот; TN – общий азот)*

В сырах *без реннина* и *закваски* наблюдалось незначительное расщепление β-казеина и очень небольшой гидролиз α_{s1}- и α_{s2}-казеинов с образованием за 6 мес созревания около 4% растворимого азота и 0,4% азота свободных аминокислот от общего содержания азота, что вызвано действием плазмина. Плазмин не влиял на протеолитическую активность реннина и закваски.

Количество водорастворимого азота в сырах голландской группы почти линейно зависит от дозы реннина, количество свободных аминокислот от дозы энзима практически не зависит [1135].

Таким образом, реннин расщепляет казеины с образованием крупных, средних и мелких пептидов, т. е. в ширину, микрофлора закваски – с образованием низкомолекулярных пептидов и, особенно, свободных аминокислот, т. е. в глубину, протеиназа молока расщепляет казеины с образованием низкомолекулярных пептидов.

Основное расщепление α_{s1}-казеина в сырах с низкими температурами II нагревания происходит под действием молокосвертывающих энзимов, остающихся в сырной массе; протеолитическая активность микрофлоры заквасок становится заметной через месяц созревания, очевидно, после начала лизиса бактериальных клеток и высвобождения

внутриклеточных энзимов. Протеолитическая активность микрофлоры заквасок для мелких сыров, связана с расщеплением β-казеина (α-казеин к этому времени почти весь гидролизован реннином) и пептидов, в том числе образующихся в результате гидролиза казеина молокосвертывающими энзимами. В целом протеолиз в мелких сырах является результатом синергетического действия молокосвертывающих энзимов и микрофлоры закваски.

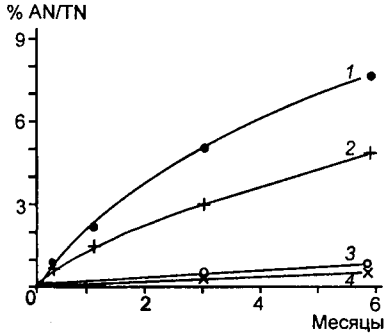


Рис. 11.13. *Накопление азота аминокислот (AN) в % от общего азота (TN) в сыре Гауда, вырабатываемом в асептических условиях: 1 – с участием всех факторов; 2 – без применения сычужного энзима; 3 – без применения закваски; 4 – без сычужного энзима и закваски* [1135]

Для проверки влияния состава заквасок на протеолиз в асептических условиях вырабатывали сыры с семью различными закваскими при примерно одинаковом количестве реннина, остающегося в сгустке [1135]. В 3-месячных сырах в зависимости от вида закваски содержание азота свободных аминокислот составляло (в % от общего азота) от 3 до 5,2%, в 6-месячных – от 3,8 до 9,3%; количество водорастворимого азота во всех вариантах было почти одинаковым (от 17 до 20% в 3-месячных сырах).

Выработки сыров в асептических условиях показывают, что для формирования типичных органолептических показателей сыров с низкими температурами II нагревания, включая группу Чеддера, достаточно молокосвертывающих энзимов и лактококковых заквасок [331, 609, 1134].

Протеолиз в Российском сыре, выработанном в обычной ванне, и влияние на него типа молокосвертывающего энзима показаны в табл. 11.8. Сыры вырабатывали на угличской закваске; в третьем варианте в молоко вносили культуральную среду (без клеток) «негорького» штамма Е8 в количестве 30% от дозы закваски, использованной в 1 и 2 вариантах, с соответствующим снижением дозы закваски. Соотношение в смеси реннета и пепсина равнялось 50:50. Замена сычужного порошка смесью его со свиным пепсином увеличило в сыре содержание водорастворимого и небел-

кового азота, но уменьшило содержание свободных аминокислот. По-видимому, пептиды, образованные свиным пепсином, медленнее расщеплялись микрофлорой закваски до свободных аминокислот, чем пептиды, образованные реннином. По количеству свободных аминокислот, образуемых в основном под действием закваски, сыры Гауда не отличались от Российского сыра. Внесение культуральной среды «негорького» штамма сливочного лактококка увеличило содержание в сыре свободных аминокислот и уменьшило содержание «горьких» пептидов.

11.8. Влияние типа молокосвертывающего энзима на протеолиз в Российском сыре [1386]

Варианты опыта	Содержание азотистых фракций				
	Общий белок, %	Растворимый N, %	Небелковый, % в пересчете на казеин	Свободные аминокислоты, мг%	Горькие пептиды, мг %
Реннет	24,1	16,9	4,19	112,2	4,10
Реннет+свиной пепсин	24,1	21,9	8,58	48,7	9,00
Реннет+свиной пепсин + *Str. cremoris E8*	25,6	21,8	4,50	102,8	3,25

Количество водорастворимого и небелкового азота в сыре Чеддер, вырабатываемом с участием плесневых молокосвертывающих энзимов, растет быстрее, чем с реннином [548], что, очевидно, обусловлено их более высоким неспецифическим протеолизом, в частности способностью атаковать в сыре не только α_s -, но и β-казеин [213].

На протеолиз огромное влияние оказывает состав и физико-химические показатели сырной массы. Чем ниже отношение содержания влаги к содержанию казеина (или СОМО), тем медленнее идет протеолиз (рис. 11.20) [603, 845]. Даже небольшое снижение $A_в$ понижает количество молокосвертывающих энзимов, остающихся в сырной массе, по отношению к содержанию казеина, в результате чего уменьшается скорость протеолиза.

Чем выше отношение содержания соли к содержанию влаги, тем медленнее идет протеолиз и более твердой будет консистенция сыра [603, 855]. Особенно чувствительно к содержанию соли расщепление β-казеина (разд. 10.6). Протеолиз в сырах идет с достаточной скоростью, если концентрация соли в водной фазе сыров лежит в интервале от 4,5 до 5,7% [618]. При более низкой концентрации соли интенсивность протеолиза увеличивается, что сопряжено с появлением в сыре пастообразной, мажущейся консистенции, горечи [603]. При одной и той же концентрации соли повышение содержания в сыре Са замедляет протеолиз [622], однако высокое содержание Са обычно бывает только в сырах с повышенным pH, а pH сильнее влияет на скорость протеолиза, чем Са (с повышением pH скорость протеолиза возрастает).

Скорость протеолиза не единственный критерий при оценке режима выработки сыра, так как увеличение pH и содержания влаги, снижение содержания соли не только ускоряют протеолиз, но и создают благоприятные условия для развития посторонней микрофлоры в сыре. Поэтому выработку сыра с оптимальными параметрами можно проводить только при хорошем качестве молока, стабильной и достаточно высокой активности заквасок и высоком уровне гигиены производства заквасок.

Анализ действия физико-химических факторов на протеолиз позволяет объяснить небольшие масштабы протеолиза в Чеддере (даже в старых сырах этого вида содержание азота свободных аминокислот не превышает 3% от общего содержания азота) [607]. Причинами, очевидно, являются низкий pH и равномерное распределение соли в головке сразу же после выработки.

Особенности протеолиза в сырах с высокой и средней температурой II нагревания

Движущие силы протеолиза в крупных и мелких сырах неодинаковы. Высокие температуры II нагревания в крупных сырах инактивируют молокосвертывающие энзимы и резко ограничивают развитие лактококков, которые играют главную роль в протеолизе в мелких сырах. Значительная часть крупных сыров вырабатывается из сырого или термизованного молока, поэтому в них возрастает роль плазмина, резистентного к температурам II нагревания. Плазмин в большем количестве, чем сычужный энзим, переходит из молока в сыр.

Основная микрофлора заквасок для крупных сыров – термофильные стрептококк и лактобациллы, действие которых на белки молока отличается от действия лактококков (11.2.4). Нельзя исключить и влияние на протеолиз в крупных сырах мезофильных лактобацилл. Неотъемлемой микрофлорой крупных сыров, за исключением терочных, являются пропионовокислые бактерии, обладающие специфической, хотя и небольшой протеолитической активностью.

Для выявления роли плазмина в крупных сырах готовили смесь молокосвертывающего энзима (Реннилазы), энзимного препарата из *Lbc. helveticus* (протеолитические энзимы закваски) и плазмина и добавляли в обезжиренное или пастеризованное молоко, обогащенное Ca^{2+} [799]. После выдержки анализировали продукты протеолиза. Только смеси, в которые входил плазмин, давали электрофореограммы, подобные полученным при анализе крупных сыров. Реннилаза в основном гидролизовала γ-казеин и протеозо-пептонные фракции, получаемые в результате действия плазмина на β-казеин. Плазмин слабо атакует α-казеин, гидролиз которого очень важен в формировании консистенции в мелких сырах, что несомненно является одной из причин различий в консистенции крупных и мелких сыров. Низкая активность плазмина в некоторых крупных сырах вызывала появление постороннего привкуса

[798]. Проведенные исследования показывают решающую роль плазмина в гидролизе β-казеина в крупных сырах [183, 798, 799].

В отличие от лактококков, лактобациллы, используемые в заквасках для крупных сыров, обладают более высокой протеолитической активностью и атакуют все казеины, хотя их протеиназная активность зависит от вида и штамма (разд. 11.2.4). Закваски с *Lbc. helveticus* более чувствительны к соли, чем закваски с *Lbc. lactis* [136, 1765].

Закваски для крупных сыров больше накапливали низкомолекулярных продуктов расщепления казеина, чем лактококки [1369]. Важно соотношение между видами бактерий в заквасках. Повышение дозы *Lbc. bulgaricus* в интервале от 0,5 до 1000 мл /200 кг молока, например, увеличивает образование пролина, но угнетает развитие пропионовокислых бактерий [90].

Активность внутриклеточных и внеклеточной протеиназ термофильного стрептококка невелика и зависит от штамма, хотя некоторые штаммы расщепляют все казеины.

Следует иметь в виду, что мезофильные лактобациллы играют более важную роль в крупных сырах, чем в мелких, а они обладают высокой протеолитической активностью в сравнении с другими лактобактериями [1765].

Таким образом, в крупных сырах принимают участие в протеолизе энзимы из различных источников, что должно сопровождаться большей глубиной расщепления белков и разнообразием продуктов протеолиза. Пониженная влажность этих сыров, безусловно, замедляет протеолиз, но более низкое содержание в них соли, выдержка определенное время при повышенных температурах, длительное созревание, более высокий уровень pH, обусловленный пониженной влажностью и более низким содержанием лактозы, ферментацией части лактатов пропионовокислыми бактериями, не только компенсируют негативное влияние низкой влажности на протеолиз, но обеспечивают большую интенсивность его в крупных сырах. Об этом свидетельствует динамика протеолиза в Эмментальском сыре, показанная в табл. 11.9 [1029]. В 5-месячном Эмментальском сыре азот свободных аминокислот составил 40% от общего содержания азота в сыре.

11.9. Протеолиз в Эмментальском сыре (на кг сухого вещества) **[1029]**

Возраст, сут	Общий N, г/кг	Водорастворимый N, г/кг	Небелковый N, г/кг	N свобод. аминокислот	
				общий, г/кг	глутаминовая к-та, ммоль/кг
1	69,0	3,7	1,3	1,61	1,8
30	68,2	8,8	3,1	4,91	4,2
60	68,9	14,9	6,0	11,40	11,1
90	69,2	15,5	7,7	17,70	17,5
120	68,9	16,2	8,5	22.80	21,8
150	68,5	17,0	9,6	27,50	25,2

Протеолиз и формирование консистенции

Казалось бы, с влиянием протеолиза на консистенцию сыра все ясно: протеолиз постепенно разрушает казеиновый каркас, являющийся основой структуры сырного сгустка, поэтому по мере созревания прочность и эластичность сгустка должны снижаться, а консистенция сыра становиться более нежной и пластичной. На самом деле консистенция сыра зависит не только от протеолиза, но и от других факторов, что усложняет процесс ее формирования, раскрытый далеко не полностью. Белоусов еще в начале 50-х годов установил, что разрушение образцов сыра по мере созревания происходит при все меньшей относительной деформации [1226, 1227]. Относительную деформацию, при которой происходит разрушение образца, Белоусов назвал критической. Критическая деформация характеризует связность сырной массы. Следовательно, по мере созревания связность сырной массы снижается, а хрупкость увеличивается.

Наблюдения Белоусова хорошо согласуются с результатами более поздних опытов Неберта с сотр., изучавшими изменения пенетрации Костромского сыра в процессе созревания (рис. 11.14; 11.15) [1537]. На первых стадиях созревания реннин гидролизует α_{s1}-казеин всего по нескольким связям, но даже отщепление одного α_{s1}-I пептида достаточно для значительного изменения реологических показателей мелких сыров [1537]. На рис. 11.14 видно, что в течение 10 сут после прессования величина пенетрации снизилась по сравнению с ее величиной в сыре после прессования примерно на 24%. Показатели пенетрации не переводятся в известные физические величины [845]. Однако существует статистически достоверная корреляция между пенетрацией и твердостью сыра. Взаимосвязь между пенетрацией и твердостью на примере Швейцарского сыра показана на рис. 11.16 [266]. Чем тверже консистенция, тем ниже показатели пенетрации, хотя связь между ними не является линейной.



Неберт Виктор Карлович 1938–2002 гг.

После 10 сут показатели пенетрации в Костромском сыре, хотя и с меньшей скоростью, продолжают снижаться до 45-суточного возраста параллельно с уменьшением влажности сыра (табл. 11.10). По Табачникову и Тетеревой, коэффициент корреляции между показателем пенетрации и содержанием влаги в сыре равен 0,89±0,02 [1684]. Затем показатели пенетрации увеличиваются и к 60-суточному возрасту они возвращаются к уровню 30-суточного сыра, после чего до 90-суточного возраста (время наблюдения) очень медленно увеличиваются. Таким образом, твердость Костромского сыра увеличивается в течение 45 сут созревания, а не снижается, как казалось бы, должно происходить в связи с протеолизом.

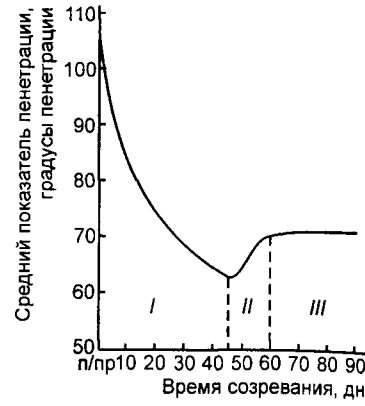


Рис. 11.14. *Изменение среднего показателя пенетрации головки Костромского сыра в процессе созревания* [1537]

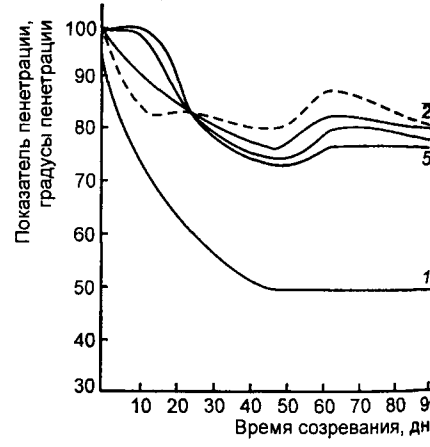


Рис. 11.15. *Изменение показателя пенетрации по горизонтальным слоям головки Костромского сыра в процессе созревания на расстоянии от корки: 1– 0,5 см; 2 – 1,5 см; 3 – 2,5 см; 4 – 3,5 см; 5 – 4,5 см*

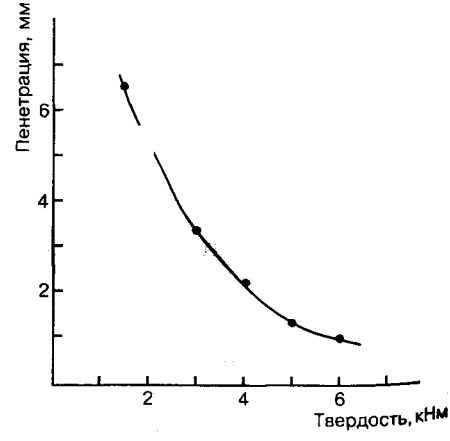


Рис. 11.16. *Взаимосвязь между величиной пенетрации и модулем сжатия* [266]

11.10. Потеря влаги Костромским сыром в процессе созревания

Период после прессования, сут	Потеря влаги в %
1–10	3,8
11–20	0,9
21–30	0,6
31–45	0,4

Существует отрицательная корреляция между твердостью и упругостью сыра, с одной стороны, и протеолизом, с другой. Реологические показатели Костромского сыра в процессе созревания изменяются в различных слоях головки по-разному: наибольшее снижение показателей пенетрации наблюдается в слое, расположенном на расстоянии 0,5 см от поверхности, а в более удаленных слоях при одинаковой тенденции масштабы изменений уменьшаются (рис. 11.15). Степень неоднородности сырного теста возрастает с увеличением протеолиза [603].

На рис. 11.17 показано изменение твердости трех других видов сыров [845], которые подтверждают результаты опытов Неберта с соавт. об изменении твердости Костромского сыра.

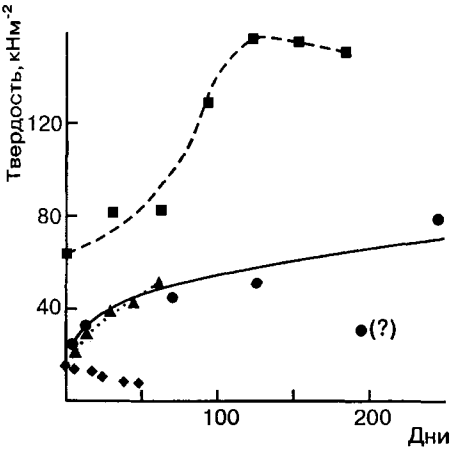


Рис. 11.17. *Изменение твердости при созревании:*
• *Чеддер;*
■ *Качкавал;*
▲ *Российский;*
◆ *Французские сыры* [845]

На рис. 11.18 показана взаимосвязь между нагрузкой и деформацией ($\ln h_0/h_1$, где h_0 – начальная высота, h_1 – высота после сжатия образца) молодых и зрелых сыров в пробе на сжатие [845]. Из него видно, что в зрелых сырах уменьшается деформация, при которой происходит разрушение образца; усилие, при котором разрушается образец при сжатии, в зрелом сыре Гауда намного выше, чем в молодом, а в сыре Чеддер – наоборот. Снижение деформации сыра в момент достижения предела текучести показано на рис. 11.19 [195]. Упругость сыров снижается во время созревания.

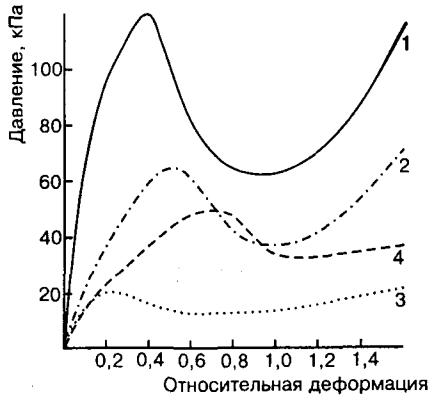


Рис. 11.18. *Кривые нагрузки-деформации для сыров: 1 – Гауда (зрелый); 2 – Гауда (молодой); 3 – Чеддер (зрелый); 4 – Чеддер (молодой)*

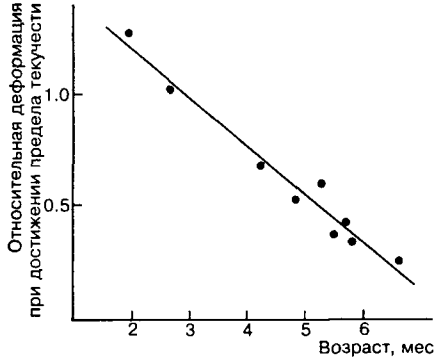


Рис. 11.19. *Взаимосвязь между возрастом сыра Чеддер и пределом текучести* [195]

Величина уменьшения деформации, при которой начинает разрушаться образец, является единственным реологическим показателем, коррелирующим со степенью зрелости мелких сыров [1147]. Это свидетельствует о снижении связности сырной массы по мере созревания. Снижение связности сырной массы в процессе созревания можно считать логическим следствием протеолиза и уменьшения активности воды. В то же время при органолептической оценке сырная масса по мере созревания становится более однородной, хорошо расходящейся во рту.

Неберт и др. [1537] и Lawrence et al. [603] объясняют характер изменений реологических показателей мелких сыров при созревании тем, что в созревающем сыре идут два процесса: протеолиз, снижающий прочность казеинового каркаса и размягчающий консистенцию, и потеря сгустком влаги, которая особенно велика на начальных этапах созревания и в поверхностном слое, в результате чего твердость сыра возрастает. Суммарный результат на каждом этапе и в каждом слое зависит от соотношения между этими процессами. Неодинаковый характер изменения реологических показателей по слоям сыра они связывают с миграцией

соли и влаги в головке. К 45-суточному возрасту миграция практически прекращается, а дальнейшее снижение твердости и повышение пластичности сыра, очевидно, происходит главным образом под действием протеолиза. К 60-суточному возрасту заканчивается расщепление α_{s1}-казеина, обусловливающего прочность казеинового каркаса сычужного сгустка, и величина пенетрации стабилизируется. Если это так, то продолжительность созревания мелких сыров, вырабатываемых по традиционной технологии, должна составлять 45–60 сут.

Таким образом, максимальные изменения показателей пенетрации, а следовательно, и твердости отмечаются в поверхностных слоях сыра, в которых наиболее сильно снижается активность воды из-за потери влаги и поступления большого количества соли из рассола. Однако, различия в консистенции внутренних и внешних слоев сыра могут быть связаны также со снижением скорости протеолиза, которая в сильной степени зависит от этих факторов (рис. 11.20) [658]. Следует отметить, что во время созревания сыра Чеддер, в котором в связи с особенностями посолки (разд. 10.3.3) миграция влаги и соли в пределах головки незначительна, его твердость также увеличивалась, но медленнее, чем в Костромском сыре (рис. 11.17). Кривые увеличения твердости сыров Чеддера и Российского во время созревания почти совпадают, хотя Российский сыр солят в рассоле после прессования. Это свидетельствует о том, что не только миграция соли и влаги являются причиной повышения твердости сыров во время созревания.

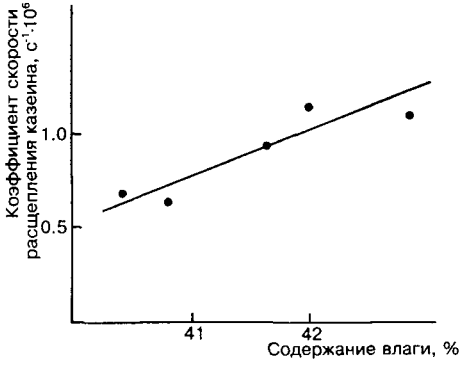


Рис. 11.20. *Зависимость скорости протеолиза от содержания влаги в сыре Мешангер* [658]

Активность воды во время созревания также снижается в результате протеолиза, так как расщепление каждой пептидной связи ведет к появлению двух новых ионных групп, связывающих воду и таким образом снижающих количество доступной для сольватации белков воды в системе. Сырная масса становится более твердой и более ломкой, т. е. разрушающейся при повышенных нагрузках, но малых деформациях [622]. На пер-

вом этапе, когда величина пенетрации в Костромском сыре снижается особенно быстро, активность воды в сыре уменьшается также в результате сбраживания лактозы, поскольку образующиеся при этом кислоты обладают гораздо большей водосвязывающей активностью, чем исходная лактоза.

В сырах Чеддер, отличающихся низким содержанием влаги (36–39%), консистенция остается ломкой, несмотря на продолжительное созревание [603]. При определенном снижении $A_в$ в системе консистенция становиться крошливой, что часто бывает в старых сырах Чеддер. Ведущую роль активности воды в формировании ломкой консистенции доказывают опыты с сыром Свесия: увеличение концентрации соли в водной фазе этого сыра с 1,55 до 4,5% (соль вносили в зерно после удаления сыворотки) привело к трансформации консистенции сыра из слегка ломкой – типичной для этого сыра – в более плотную, менее связную и гомогенную, несмотря на более высокую влажность сыров с повышенной концентрацией соли [773].

При высокой влажности консистенция сыра во время созревания размягчается пропорционально степени протеолиза, главным образом, α_{s1}-казеина [603]. Раманаускас показывает, что при высокой влажности Российского сыра в процессе созревания содержание в нем небелковых азотистых веществ возрастает, эластичность снижается, т. е. превалируют процессы, обусловливаемые расщеплением белков, а не снижением активности воды [1599]. В то же время интенсификация протеолиза в сыре Проволоне с низкой влажностью внесением в смесь термофильных лактобацилл, находящихся в состоянии теплового шока, приводит не к размягчению консистенции, а к ускорению формирования типичной для этого сыра ломкой консистенции [505]. В этом случае большее влияние на консистенцию оказывает изменение $A_в$. Возможно, потеря сыром во время созревания части влаги сближает параказеиновые пряди, лежащие на поверхности жировых шариков и образующие ячеистую структуру, и между ними возникают новые физические или химические связи.

Сканирующая электронная микроскопия показала, что сырная масса представляет непрерывную белковую матрицу, структурные элементы которой в различных видах сыров имеют существенные различия (рис. 11.21) [622]. Структурные единицы белковой матрицы в сыре Гауда имеют такую же глобулярную форму (10–15 нм в диаметре), как в исходном молоке, а в сыре Чешир они намного меньше (3–4 нм) и имеют вид цепочек или прядей. Чеддер занимает промежуточное положение: часть его структурных единиц имеет глобулярную форму, как в сыре Гауда, часть – такую же форму, как в сыре Чешир.

Изменение структуры сыров коррелирует с pH сыров. По уровню pH сыры располагаются следующим образом: Стильтон (pH 4,6–4,75) < < Чешир (4,75–4,9) < Чеддер (4,9–5,3) < Российский (5,1–5,3) < Костромской, Гауда (5,2–5,35). Чем ближе pH сыра к изоэлектрической точке параказеина, тем более компактную форму принимают белки, тем при меньшей деформации сжатия разрушается структура [195, 622,

1150]. Уменьшение размеров структурных единиц казеинового каркаса при понижении pH сыра может быть вызвано понижением степени гидратации белков. Активная кислотность может влиять на консистенцию через протеолиз, так как чем ниже pH сыров, тем менее интенсивно идет расщепление белков.

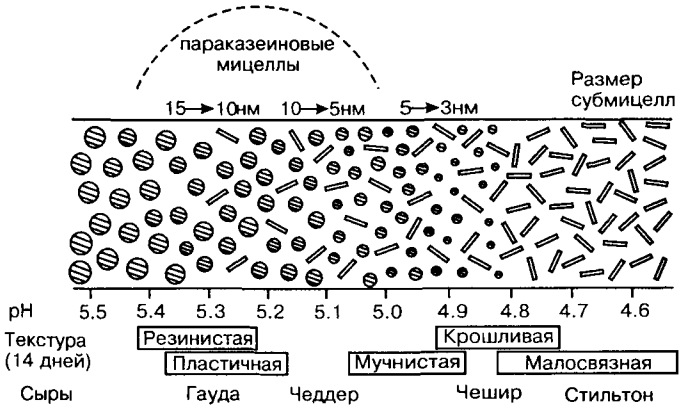


Рис. 11.21. *Влияние pH на структуру и консистенцию сыра* [622]

Однако в этом случае замедлялся бы переход консистенции от резинистой к более хрупкой, а для сыров с низким pH характерными пороками консистенции как раз являются крошливость, ломкость, малосвязность, самокол. В гл. 2 показано, что слишком быстрое нарастание кислотности во время выработки сыра влияет на переход мицеллярного фосфата кальция в сыворотку, что оказывает большое влияние на консистенцию сыров.

Консистенция сыра становится менее твердой при уменьшении содержания кальция. В мелких сырах диапазон содержания Ca выше, чем в сырах группы Чеддер, что повышает его роль в формировании консистенции.

На формирование консистенции сыров большое влияние оказывает температура созревания сыра. Так, консистенция 8-недельного сыра Чеддер, созревающего при 15° C, была такой же, как консистенция 16-недельного сыра этой же выработки, созревающего при 8° C [603]. Повышение температуры созревания до 20° C привело к формированию хрупкой и крошливой консистенции.

Консистенция сыров с высокими температурами II нагревания существенно отличается от консистенции мелких сыров. На рис. 11.22 показано сопротивление сжатию распространенных в Швейцарии сыров с высокими температурами II нагревания [266]. Эта диаграмма позволяет определить усилие, которое необходимо приложить для разрушения образца, и высоту образца в момент разрушения в % от первоначальной.

Степень сжатия в момент разрушения образца свидетельствует об однородности, связности консистенции: разрушение при низкой компрессии свидетельствует о крошливости, малой связности консистенции, и наоборот [845]. Усилие, необходимое для сжатия образца на одну треть, используют для характеристики твердости крупных сыров. Величина усилия, разрушающего образец при сжатии, зависит от твердости и характера консистенции сыра. На рис. 11.23 показано изменение степени сжатия в момент разрушения образца в процессе созревания [267]. Степень сжатия образцов Эмментальского сыра и усилие в момент разрушения значительно выше, чем сыров Грюйер и Аппенцеллер, что свидетельствует о большей гомогенности, связности его консистенции и более ломкой консистенции Грюйера и Аппенцеллера.

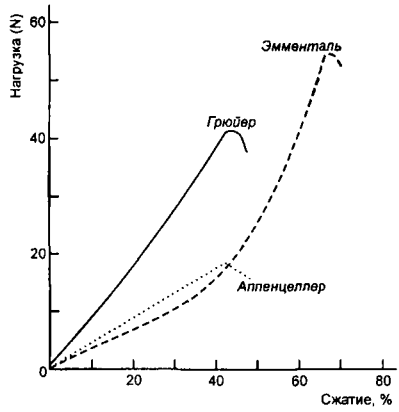


Рис. 11.22. *Типичная диаграмма сжатия для крупных сыров*

Связность консистенции Эмменталя увеличивается в первые 30 сут созревания, затем она начинает снижаться, консистенция становится более рыхлой. Повышение связности консистенции сыров Грюйер и Аппенцеллер в первый период созревания (примерно до окончания образования глазков) менее выражено, а скорость ее снижения в последующие периоды больше.

Различия в реологических показателях между Эмменталем и двумя другими видами крупных сыров главным образом обусловлены более сильным протеолизом в двух последних видах. Существует обратная корреляция между степенью сжатия образца сыра в момент разрушения и содержанием в сыре небелкового азота [267]. Более интенсивный протеолиз в швейцарских сырах Грюйер и Аппенцеллер обусловлен тем, что в их созревании принимает участие микрофлора поверхностной слизи. В зрелых сырах Грюйер и Аппенцеллер содержание небелкового азота было выше, чем в Эмментальском сыре, в 1,38 и 1,17 раза соответственно [1025]. Предельная степень сжатия уменьшается с повышением температуры созревания, что также можно объяснить повышением скорости протеолиза.

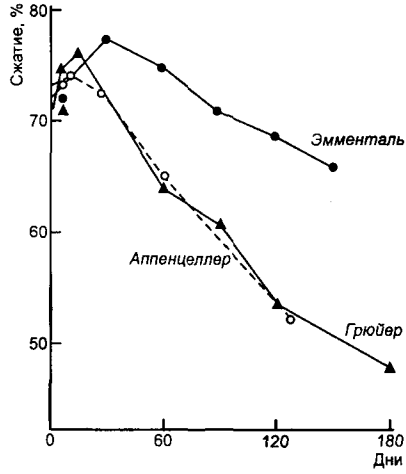


Рис. 11.23. *Изменение относительной деформации сжатия в момент разрушения образца в зависимости от возраста сыров* [267]

Даже небольшие изменения в характере протеолиза могут оказать влияние на консистенцию сыра. Так, консистенция сыров с различными молокосвертывающими энзимами всегда отличается от консистенции сыров с реннетом, хотя и остается в рамках, приемлемых для потребителя. Правда, это обусловлено не только различиями в протеолизе во время созревания, но и неодинаковой структурой сгустков, получаемых в процессе свертывания [622].

Протеолиз и формирование вкуса и аромата сыра

Существует тесная корреляция между характером протеолиза, вкусом и ароматом сыра [36, 1190]. При этом скорость формирования и степень выраженности сырного вкуса коррелирует с расщеплением только β-казеина [408], которое осуществляют в мелких сырах микрофлора закваски, лактобактерии незаквасочного происхождения, плазмин. В формировании органолептических показателей сыров принимают участие продукты протеолиза – пептиды и свободные аминокислоты (САК), а также соединения, получающиеся в результате дальнейшего преобразования САК в результате воздействия на них микрофлоры сыра и чисто химических реакций (рис. 11.1). Кроме этого, протеолиз понижает степень связывания вкусовых и ароматических веществ сгустком и создает условия для их воздействия на органы чувств потребителей [607, 622].

Образование горького вкуса. О влиянии пептидов – промежуточных продуктов протеолиза – на органолептические показатели сыров мало что известно, кроме того, что гидролиз казеинов может сопровождаться образованием пептидов, придающих горечь продукту. Горечь в

сырах является одним из наиболее распространенных пороков. Горькие пептиды, образующиеся в сыре, чаще всего имеют молекулярную массу меньше 1400 и отличаются большой гидрофобностью [1133]. Champion & Stanley выделили горькую фракцию из Чеддера, содержащую большие количества лейцина и валина [159]. Горькие фрагменты α_{s1} -казеина [894] и β-казеина [1138] содержали много гидрофобных концов (фенилаланил, изолейцил, лейцил, валил, пролил) и имели длину цепочек от 2 до 22 аминокислот. Синтезированы пептиды Арг-Глу-Про-Фен-Про-Иле-Иле-Вал, присутствующий в гидролизате β-казеина, и Арг-Глу-Про-Про-Фен-Иле-Вал, горечь которых обусловлена N-терминальным аргинином и гидрофобным пептидом в С-позиции [528]. Пептиды отличаются необычайно горьким вкусом (вкусовой порог 0,004 и 0,05 мМ). Выделен горький пептид из β-казеина (196–209) со вкусовым порогом 0,015 мМ, горечь которого в 67 раз сильнее, чем горечь кофеина [959]. Горьким вкусом обладал пептид из β-казеина, включающий остатки аминокислот в позиции 53–79 [365].

Горькие пептиды в сырах образуют молокосвертывающие энзимы и лактококки. В опытах с растворами казеинов при pH 5,4 и 15° С ренне т и химозин образовывали горькие пептиды из цельного казеина, α_{s1}-казеина, β-казеина, пара-$\varkappa$-казеина [1139]; в сырах химозин не расщепляет β-казеин.

Свиной пепсин образовывал горькие пептиды из С-концевой части α_{s1}-казеина; практически все гидрофобные пептиды были образованы в результате разрыва пепсином связей Лей, Тир и Фен [1451]. Наиболее горькими из гидролизатов казеинов, полученных под воздействием ренне та, свиного пепсина, химотрипсина, трипсина, были гидролизаты α_{s1}-казеина [832].

Неразрушенные клетки *Lc. cremoris* HP, дающего горечь в сырах, образовывали горькие пептиды только из $\varkappa$- и β-казеинов [1139]. Горькие пептиды образовывались под действием протеиназ клеточной стенки. Протеиназо-негативные варианты «горьких» штаммов лактококков, полученные генетическими методами, перестают образовывать горечь в сырах [727]. Штаммы *Lc. cremoris*, не дающие горечь в сырах, расщепляют горькие пептиды, образуемые химозином из α_{s1}- и пара-$\varkappa$-казеина, но не из β-казеина [1139]. Расщепляют горькие пептиды внутриклеточные энзимы лактококков [1138].

Горькие пептиды есть в негорьких сырах, но в низких концентрациях. В сырах Гауда главными компонентами горечи являются фрагменты β-казеина [175, 284, 365, 440, 536, 661, 727, 832, 1017, 1019, 1139, 1385, 1387, 1434, 1451, 1573, 1764], что, по-видимому, обусловлено расщеплением большей части горьких пептидов из α-казеина лактококками закваски [1138]. По количеству образуемого водорастворимого азота в сыре различий между «горькими» и «негорькими» штаммами лактококков не обнаружено [1135]. Однако «негорькие» штаммы образуют значительно больше свободных аминокислот.

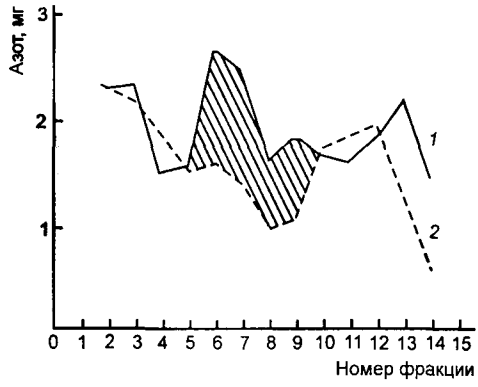


Рис. 11.24. *Содержание азота во фракциях при гель-фильтрации сыворотки стерилизованного молока после семисуточной выдержки с культурами молочнокислых бактерий: 1 – молоко с культурой Lc. cremoris HP; 2 – молоко с культурой Lc. cremoris E_8*

Элюционные профили сыров, выработанных с «горькими» и «негорькими» штаммами лактококков, сильно различаются (рис. 11.24.) [1434]. В опыте использованы штамм HP, дающий, и штамм E_8, не дающий горечи в сырах с низкой температурой II нагревания. Объем фракций 5–10 в варианте с «горьким» штаммом был значительно выше, чем в варианте с «негорьким» штаммом. В этих фракциях и сосредоточены горькие пептиды.

Есть различия в количестве и соотношении свободных аминокислот, образуемых «горькими» и «негорькими» штаммами *Lc. cremoris* в сыре Гауда (табл. 11.11) [1135]. Содержание всех аминокислот было выше в сырах, выработанных с «негорьким» штаммом E_8. Содержание в них лизина было в два раза выше, чем в сырах с «горькими» штаммами, аргинина – в два раза, глутаминовой кислоты – в 2,13 раза, изолейцина – в 3,8 раза и т. д.

Эти различия наблюдались как в присутствии, так и в отсутствие молокосвертывающего энзима. Доля лейцина, серина, фенилаланина и пролина в общем содержании аминокислот и количество пептидов было выше у «горьких» штаммов.

Звягинцев и др. считают, что способность высвобождать большое количество глутаминовой кислоты можно использовать как критерий для отбора штаммов, не образующих горечь в сырах [1387]. Visser не считает эту пробу специфичной [1135].

Несмотря на то что количество свободных аминокислот в сырах с «негорькими» штаммами всегда было выше, чем в сырах с «горькими» штаммами, соотношение между кислотами в них было близким.

Химозин высвобождает горькие пептиды в начале расщепления казеина [1139]. Из табл. 11.3 видно, что он образует в 2,6–3,5 раза больше

пептидов с молекулярным весом менее 1400, чем закваски. Количество таких пептидов, образуемое при совместном действии реннина и лактококков, гораздо выше, чем их сумма при раздельном действии этих факторов [1133]. Возможно, это обусловлено тем, что лактококки сами не гидролизуют α-казеин в сыре, но способны расщеплять продукты его гидролиза реннином с образованием горьких пептидов. Примеси энзимов, содержащиеся в промышленных молокосвертывающих препаратах, образовывали больше горьких пептидов, чем химозин [1385]. Факторы, влияющие на количество остающихся в сыре молокосвертывающих энзимов (кислотность сыворотки и сырной массы в конце обработки зерна, промывка сгустка, температура II нагревания, доза энзимов), оказывают влияние на степень горечи сыров [1019]. Заменители сычужного энзима образуют больше горьких пептидов, чем химозин, при прочих одинаковых условиях [1386, 1573]. В Российском сыре со свиным пепсином, например, было обнаружено в 2,2 раза больше горьких пептидов, чем в сыре из этого же молока с реннином (табл. 11.8) [1386]. Ионы Са стимулируют образование горьких пептидов [1573].

Горькие пептиды из β-казеина, которые преобладают среди горьких пептидов в зрелых сырах, могут образовываться только микрофлорой закваски или посторонней микрофлорой.

По скорости накопления кислоты и биомассы штаммы лактококков делят на «быстрые» и «медленные». В сырах Чеддер горечь преимущественно вызывают «быстрые» штаммы лактококков, размножающиеся при температурах II нагревания, биомасса которых в сыре после прессования достигает уровня больше 10^9 КОЕ/г [727]. «Медленные» штаммы, чувствительные к температуре II нагревания, биомасса которых в сырах после прессования находится на более низком уровне (примерно 10^8 КОЕ/г), горечи не вызывают. Горькие пептиды образуются под действием протеиназ клеточной стенки, а более низкая плотность популяции штамма в конце выработки уменьшает количество протеиназ. По данным Hillier et al., протеиназы «негорьких» штаммов не действуют при 40° С, но действуют при 30° С, протеиназы «горьких» штаммов действуют при обеих температурах [440].

Попытки выработать сыр на закваске только из «медленных» штаммов не принесли успеха; для формирования требуемого вкуса и аромата в закваске должно быть определенное количество «быстрых» штаммов. Mills & Thomas использовали для выработки сыра Чеддер закваску, 45–75% клеток в которой были протеиназо-отрицательными, т. е. относились к «медленным» штаммам, что позволило снизить уровень протеолитической активности при сохранении плотности популяции [661, 827]. В пяти из шести сыров, выработанных с этой закваской, горечь была менее выражена, чем в контрольных сырах.

В опытах Lowrie et al. штамм сливочного лактококка AM_2 в сырах, выработанных в асептических условиях при температуре II нагревания 38° С, имел невысокую концентрацию клеток в сыре перед прессованием

и не дал горечи, а при температуре 33° С количество его клеток резко возросло и в сырах появилась горечь [661]. Мезофильные лактобациллы снижают горечь в сырах [284].

11.11. Концентрация свободных аминокислот в сыре Гауда, выработанном в асептических условиях, с комбинацией всех факторов (НС) и без реннина (БР), в мг/г

Аминокислоты	НС		БР	
	E_8*	W_{G2}*	E_8*	НР*
Лизин	2,02	1,04	1,52	0,64
Гистидин	0,22	0,22	0,15	0,13
Аргинин	1,18	0,60	0,46	0,21
Аспарагиновая	0,45	0,19	0,21	0,10
Треонин	1,55	0,73	0,70	0,32
Серин	0,54	0,30	0,44	0,34
Глутаминовая	3,83	1,80	2,83	1,24
Пролин	0,36	0,53	0,40	
Глицин	0,37	0,13	0,19	0,07
Аланин	0,50	0,25	0,31	0,20
Валин	1,13	0,64	0,74	0,39
Метионин	0,66	0,37	0,41	0,30
Изолейцин	0,65	0,17	0,60	0,16
Лейцин	3,34	1,79	1,32	0,79
Тирозин	1,00	0,46	0,31	0,28
Фенилаланин	1,67	0,99	0,70	0,53
Всего	19,11	10,04	11,42	6,10

*E_8 – «негорький», W_{G2} и НР – «горькие» штаммы

Kempler et al. ликвидировали горечь в Чеддере, заменив в закваске «горький» штамм *Lc. lactis* С2 его трансдуктантом с пониженной протеиназной активностью [536]; Шуляк и Новикова предотвратили образование горечи в Костромском сыре, применив закваску с низкой протеиназной активностью [1764]. По Stadhouders et al., для получения хорошего вкуса в мелких сыров в закваске достаточно иметь 20% протеиназо-положительных штаммов [1017].

При разработке технологии жидкого сыра Чеддер (при его выработке из молока удаляют Са) для ускорения формирования вкуса и запаха использовали нейтральную протеиназу из *B. subtilis*, но в продукте появилась горечь. Добавленный к нему пептидазный экстракт из «негорького» штамма молочного лактококка полностью ликвидировал горечь [175].

Снижение плотности популяции микрофлоры закваски, а следовательно, и протеиназной активности на начальных этапах производства

сыра должно быть компенсировано, так как в сырах вся лактоза должна быть сброжена и ослабление активности микрофлоры закваски на начальном этапе обусловит необходимость более интенсивного ее размножения на последующих. Тем не менее факты свидетельствуют, что этот прием снижает опасность появления горечи в Чеддере. Это можно объяснить тем, что в Чеддере на последующих этапах резко понижается активность воды в результате посолки, что ингибирует протеолиз, особенно расщепление β-казеина и, как следствие, образование горьких пептидов [213, 1586]. В Чеддере горечь не появляется при концентрации соли в водной фазе более 4,7% [607, 622]. Если это единственная причина исчезновения горького вкуса в сырах при снижении плотности популяции микроорганизмов закваски во время выработки, то в сырах с посолкой в рассоле снижение протеиназной активности микрофлоры заквасок на начальном этапе окажет меньшее влияние на уменьшение горечи, так как соль в них медленно распространяется внутри головки и поэтому длительное время не может оказать непосредственного влияния на протеолиз в большей части массы головки. Правда, и в этом случае соль может оказать влияние на протеолиз за счет создания градиента активности воды между поверхностными и внутренними слоями сыра и усиления миграции влаги от центра к поверхности. Кроме этого, гидролиз β-казеина микрофлорой закваски начинается спустя месяц после выработки сыра, когда активность воды снизится и в глубинных слоях. Возможно также, что главная причина появления горечи только при высокой концентрации клеток лактококков в конце выработки сыра заключается в том, что протеиназы, ассоциированные с клеточной стенкой, наиболее активно образуют горькие пептиды при повышенных уровнях pH и температуры, характерных для сыра во время выработки, которые начинают снижаться уже во время посолки. В этом случае снижение протеиназной активности микрофлоры закваски на начальном этапе будет эффективным средством уменьшения горечи в сырах с посолкой в рассоле.

Соль незначительно влияет на первичную стадию гидролиза α_{s1}-казеина – отщепление от него молокосвертывающими энзимами α_{s1}-I пептида; последующий гидролиз α_{s1}-I пептида в большой степени зависит от содержания соли в водной фазе сыра [213].

Протеиназная активность лактококков в конце стационарной фазы, по сравнению с концом логарифмической, ниже для «горького» штамма *Lc. lactis* на 10%, а для «негорького» – на 80% [938]. После окончания сбраживания лактозы, т. е. во время созревания сыра, лактококки находятся в фазе гибели, и их протеиназная активность должна все время уменьшаться.

Снижение дозы закваски, повышение температуры II нагревания, т. е. меры, лимитирующие накопление биомассы лактококков во время выработки, уменьшают вероятность появления горечи в сыре Гауда [613]. Пользоваться этими рекомендациями нужно осторожно, так как низкая активность молочнокислого брожения во время выработки создает условия для быстрого развития посторонней микрофлоры.

Внутриклеточные пептидазы «негорьких» штаммов разрушают горькие пептиды при pH больше 4,5, «горьких» штаммов – при pH только выше 5,5 [1049]. Minagawa et al. показали возможность предотвращения горького вкуса в сырах с помощью аминопептидазы Т, расщепляющей горькие пептиды [728]. Добавление в молоко для выработки Российского сыра со свиным пепсином культуральной среды «негорького» штамма *Lc. lactis* E8 в 2,7 раза снизило содержание горьких пептидов в продукте (табл. 11.8) [1386]. Багдонайте считает, что штаммы лактококков с повышенной аминопептидазной активностью предотвращают появление горечи в сырах [1214].

Горечь в Чеддере, появившаяся из-за использования повышенных доз реннета, исчезала при внесении в молоко определенных доз фагагомолога к штамму лактококков, с которым вырабатывали сыр. Это можно объяснить тем, что горькие пептиды, образуемые реннетом, расщепляются внутриклеточными энзимами лактококков, которые высвобождаются во время лизиса клеток бактериофагами [198].

Применение закваски, содержащей несбраживающие лактозу и не обладающие протеиназной активностью мутанты лактококков, позволило выработать сыр с повышенным содержанием САК, не имеющий горечи [386]. Пониженная способность закваски сбраживать лактозу позволяет увеличить ее дозу без повышения кислотности сырной массы выше оптимального уровня, а высокие дозы закваски при отсутствии протеиназной активности, связанной с клеточными стенками, увеличивают способность расщеплять пептиды до САК внутриклеточными пептидами (освобождающимися в процессе автолиза) без образования горьких пептидов.

Молокосвертывающие энзимы и микрофлора закваски – не единственные причины образования горьких пептидов в сырах. Энзимы, способные их образовывать, также выделяют психротрофы в молоке до пастеризации (разд. 11.2.2). Интенсивность вызываемой ими горечи возрастает при увеличении продолжительности созревания и хранения сыра.

Размножение в сырах *Ent. faecalis subsp. liquefaciens*, обладающего мощной протеолитической активностью, может вызвать появление сильной горечи. Порок возникает при исходном содержании в молоке свыше 10^6 КОЕ/мл этого подвида, что при использовании пастеризации молока вряд ли возможно. Однако при низкой активности микрофлоры закваски энтерококки могут размножиться в сыре до критического уровня и при меньшей исходной их дозе в молоке [1442]. Появление горечи в этом случае сопровождается возникновением мажущейся консистенции.

Горечь в сырах, выработанных в асептических условиях, была выше, чем в контрольных, выработанных из этого же молока и с этой же закваской в открытых ваннах [613]. Это свидетельствует о наличии среди незаквасочной микрофлоры бактерий, разрушающих горькие пептиды, которыми скорее всего являются лактобациллы. Allen & Knowles еще в 1934 г. указывали, что без молочнокислых палочек сыры не имеют должного аромата и горькие на вкус [331]. Способность лактобацилл уменьшать горечь в сырах обусловлена их высокой аминопептидазной активностью.

Снижение температуры созревания Чеддера с 13 до 6° С усиливает горечь. Это связано с ингибированием развития лактобацилл и снижением активности внутриклеточных протеиназ лактококков, разрушающих горькие пептиды, образуемые молокосвертывающими энзимами из α-казеинов, низкими температурами. Вероятность появления горечи увеличивается в сырах с низким pH, что связано со снижением активности энзимов, расщепляющих горькие пептиды.

САК и вкус сыра. Роли САК в формировании вкуса сыра посвящено много исследований. Аминокислоты могут быть сладкими, горькими, напоминать по вкусу мясной бульон. В сочетании с другими соединениями САК могут приобретать самый разнообразный вкус. Сторонником гипотезы о тесной корреляции аминокислотного состава с вкусом сыра был Диланян [1345]. Он считал, что в состав заквасок нужно включать только те штаммы лактобактерий, которые образуют в молоке свободные САК в том соотношении, в котором они находятся в сырах высшего сорта вырабатываемого вида. В качестве эталона были установлены следующие аминограммы (в % от общего содержания аминокислот): для сыра Швейцарского – лизин 13–14, треонин 5–6, глутаминовая кислота 17–18, пролин 12–13, лейцин 9–10; для сыра Советского – лизин 10, глутаминовая кислота 14–18, пролин 8–10, лейцин 15, фенилаланин 6, серин 10 и валин 10 [1345]. Диланян с учениками упорно разрабатывали эту тему, но выдвинутая им концепция не получила признания в мировых научных кругах. Причиной этого, очевидно, являются неодинаковые условия для протеолиза лактобактериями в молоке и в сыре, в результате чего спектры образуемых ими САК в средах и сыре не совпадают. Кроме этого, микрофлора закваски образует значительное количество свободных аминокислот не из казеинов, а из продуктов их расщепления молокосвертывающими энзимами [1135].

Чеботарев выявил отличия качественного состава свободных аминокислот в сыре и исходном казеине [1737], что обусловлено трансформацией аминокислот в процессе созревания сыров. В зрелых сырах нет серина, аргинина и метионина, в некоторых сырах отсутствует гистидин, несмотря на их присутствие в казеине. В то же время в сырах появляются орнитин, α- и γ-аминомасляная кислоты, отсутствующие в исходном казеине. По данным Чеботарева, в сырах могут трансформироваться аланин в аммиак и пировиноградную кислоту, глутаминовая кислота – в аммиак и α-кетоглутаровую кислоту, лейцин – в масляную кислоту, треонин и валин – в пропионовую кислоту, аспарагиновая кислота – в янтарную, глицин – в гликсалевую, метионин – в α-аминомасляную кислоты. В молоке такая трансформация аминокислот может и не иметь места.

Долгое время существовало мнение, что САК, кроме пролина в сырах с высокой температурой II нагревания, непосредственно не играют существенной роли в формировании вкуса сыров, выполняя функцию предшественников вкусовых и ароматических веществ [295]. Главное внимание

при исследовании вкусообразования в сырах уделяли летучим соединениям, образующимся в результате липолиза и трансформации САК.

Несмотря на то что выдвинутый Диланяном принцип подбора микрофлоры заквасок по спектру образуемых в молоке аминокислот оказался несостоятельным, его и Чеботарева мнение о важнейшей роли свободных аминокислот, а также других нелетучих водорастворимых продуктов протеолиза, в формировании вкуса и аромата сыров получает подтверждение в последних работах [34, 705]. McGugan et al. показали, что растворимая, нелетучая фракция азота наиболее важная детерминанта сырного вкуса (не обязательно качества) [705]. Безвкусные, освобожденные от жира остатки старых сыров оказывают более сильное влияние на интенсивность сырного вкуса реконструируемых фракций сыра, чем равные количества подобных остатков молодых сыров. Напрашивается вывод, что вкусовые вещества становятся более доступными компонентами вкуса после разрушения структуры сыра.

Ельцова еще в 1961 г. показала, что в Голландском сыре хорошего качества было больше свободных аминокислот, особенно глутаминовой, чем в сырах с недостаточно выраженным вкусом и ароматом [1375]. Stadhouders et al. установили, что сыры, выработанные с протеиназо-отрицательными мутантами лактококков (Прт$^-$), имели по сравнению с контрольными сырами одинаковое содержание растворимого, но значительно более низкое содержание аминного азота, что коррелировало с их менее выраженным сырным вкусом [1017]. Farkye & Fox также получили подобный результат [303].

Установлена корреляция между содержанием в сыре Фен, Ала, Про, Глу и Асп и продолжительностью созревания, но не качеством сыра [385].

В асептически выработанных сырах выявлена корреляция между количеством САК и выраженностью сырного вкуса [1135]. По мнению ряда авторов, молокосвертывающие энзимы и эндопептидазы лактококков оказывают основное влияние на формирование вкуса и аромата сыров с низкими температурами II нагревания [386, 796], а основными продуктами совместного действия этих факторов являются САК. Содержание растворимого в фосфорно-вольфрамовой кислоте азота (в основном азот свободных аминокислот) предлагается использовать как показатель степени выраженности вкуса и аромата сыра [36].

Для улучшения вкуса, аромата и ускорения созревания египетского сыра Рас в сгусток вносили равные количества аспарагиновой и глутаминовой кислот (по 1 или 2 мг/кг) с добавлением или без добавления 5 г/100 кг молока Na_2HPO_4 [279]. Добавление аминокислот улучшало вкус, но приводило к получению сыра более твердой консистенции. Добавление Na_2HPO_4 устраняло этот порок консистенции. Добавленные аминокислоты ускоряли протеолиз и созревание сыра пропорционально дозе, фосфат также ускорял созревание. Этот опыт подтверждает важную роль САК в формировании вкуса сыра.

Есть экспериментальные данные, которые, на первый взгляд, опровергают эту точку зрения. Раманаускас и Шаломскене показали, что в нестандартном по вкусу и запаху Российском сыре содержится больше САК и летучих жирных кислот (ЛЖК) [1619]. В справедливости установленного ими факта не приходится сомневаться, поскольку он получен в результате исследования большого количества сыров промышленной выработки. Однако однозначно интерпретировать его невозможно, так как такое повышение содержания свободных аминокислот и, особенно, жирных кислот вряд ли можно объяснить результатом жизнедеятельности микрофлоры закваски. Скорее всего, это результат жизнедеятельности посторонней микрофлоры, например, психротрофов, которые образуют не только САК, но и десятки других соединений, способных ухудшить органолептические показатели сыров. К таким соединениям можно отнести свободные карбоновые кислоты, содержание которых в дефектных сырах было в 4,6 раза выше, чем в доброкачественных.

То, что повышенное содержание САК не могло быть непосредственной причиной забраковки Российского сыра, доказывает другая работа Раманаускаса и Меялене [1604]. В этой работе для изучения возможности повышения степени использования белков молока в сыроделии в смесь для выработки Российского сыра вносили сухие концентраты сывороточных белков с разной массовой долей нативных сывороточных белков. Внесение их в молоко вызвало более интенсивное образование САК в сыре: в 10-дневном сыре количество САК увеличилось в 3 раза, в конце созревания – примерно в 9 раз. Преобладающими кислотами были глутамин, лейцин и лизин, массовая доля которых составила 44% от общего количества САК. Параллельно с увеличением содержания САК в сырах в процессе созревания увеличивалась концентрация свободных жирных кислот (СЖК): в сырах зрелого возраста их было в 2,2 раза больше, чем в сырах после прессования. В кондиционном возрасте опытные сыры обладали нежной, пластичной, однородной по всей массе консистенцией и умеренно выраженным, слегка кисловатым вкусом, получившим более высокую оценку, чем вкус контрольного сыра. Авторы делают вывод, что повышение содержания нативных сывороточных белков в сыре интенсифицирует накопление вкусовых и ароматических веществ, не меняя направленности биохимических процессов созревания. Сывороточные белки не атакуются или очень плохо атакуются молокосвертывающими энзимами и микрофлорой мезофильных заквасок. Их добавление в сыры уменьшает потери влаги сыром во время созревания и хранения, что и должно было интенсифицировать процессы созревания. При этом сыры вырабатывались в экспериментальных условиях, при которых их загрязнение посторонней микрофлорой было сведено до минимума. В опытных сырах содержание молочнокислых бактерий в период максимума было выше, чем в контрольных. В данном случае увеличение содержания САК в опытных сырах произошло за счет жизнедеятельности микрофлоры закваски, и оно положительно повлияло на формирование и характер органолептических показателей сыра.

Law et al. увеличили в 3 раза содержание САК в Чеддере, выработанном в асептических условиях, внесением в молоко обработанных лизоцимом клеток лактококков, потерявших способность сбраживать лактозу [609]. Выраженность сырного вкуса в опытных сырах по сравнению со вкусом сыров, выработанных с обычной закваской, не изменилась, но в них реже обнаруживалась горечь. Отсюда они делают вывод об отсутствии прямого влияния САК на вкус сыра. Снижение горечи в их опыте можно объяснить более ранним высвобождением внутриклеточных энзимов из обработанных лизоцимом клеток.

Выработки в асептических условиях доказали ведущую роль лактококков в образовании САК в сырах с низкими температурами II нагревания и большие различия между заквасками по этому показателю; работы по поиску метода оценки протеолитической активности заквасок должны быть продолжены. Испытание в производстве сыра Гауда двух «быстрых» штаммов *Lc. cremoris* с высокой активностью образования небелкового азота показали, что один из них, образующий большое количество глутаминовой кислоты, лейцина и треонина, дал хорошо выраженный сырный вкус, второй образовывал горечь [1101].

Лахт и Вилу считают, что каждый вид сыра характеризуется определенным составом САК [1475]. Сыры Эдам, вырабатываемые в Финляндии и Венгрии, содержат валин в концентрации 5,6 и 5,9 ммоль/г, метионин – 1,7 и 1,6 ммоль/г, аргинин – 1,2 и 1,2 ммоль/г соответственно. Эмментальские сыры немецкого и французского производства содержали валина 11 и 10 ммоль/г, метионина – 2,4 и 2,4 ммоль/г соответственно. Суммарное содержание САК в обоих сырах составляло 121 ммоль/г. Соотношение Глу/Ала в Эмментальском сыре высокого качества, выработанном в Эстонии, в трехмесячном возрасте равняется 2,66; в выработанном в Финляндии – 2,67 в 9-месячном возрасте. В эстонском Эмментале выше содержание γ-казеина, что авторы объясняют более высоким содержанием в молоке соматических клеток, содержащих энзимы, гидролизующие β-казеин с образованием γ-казеина.

Engels & Visser исследовали вклад водорастворимых соединений сыров Чеддер, Гауда, Грюйер, Маасдам, Пармезан в формирование вкуса и аромата [290]. Они нашли, что наибольшее влияние на вкус и аромат сыров оказывают низкомолекулярные соединения (меньше 500 Да), включая пептиды, аминокислоты, свободные жирные кислоты и продукты их расщепления.

Общая протеолитическая активность и качество сыра. Термофильные лактобациллы играют главную роль в интенсивности и специфичности протеолиза, формировании вкуса и аромата в крупных сырах. Включение термофильных и, в меньшей степени, мезофильных лактобацилл в закваски для мелких сыров придает нетипичный для них пряный, сладковатый привкус, характерный для крупных сыров, обусловленный высоким содержанием свободного пролина.

В изучении влияния специфичности протеолитической активности микроорганизмов на органолептические показатели сыра есть определенная трудность, поскольку различия в протеолитической активности сопровождаются различиями в гликолитической активности, играющей важнейшую роль на первых этапах производства сыра. В настоящее время при проведении подобных опытов микроорганизмы подвергают шоковым обработкам, после которых клетки теряют способность сбраживать углеводы во время выработки сыра, но сохраняют протеолитическую активность, в частности активность внутриклеточных протеолитических энзимов.

Лактобациллы незаквасочного происхождения могут интенсифицировать протеолиз и ускорить формирование сырного вкуса, что используют в производстве низкожирных сыров, главным недостатком которых при выработке на лактококковых закваскаx являются слабовыраженный вкус и аромат, твердая консистенция. Внесение в смесь для выработки сыра 10 %-ной жирности термофильных лактобацилл, находящихся в состоянии теплового шока, ликвидировало в нем горечь и усилило аромат: органолептические показатели опытных сыров были такие, как у сыров с 28% жира [31].

Добавление в молоко для производства сыра Гауда термофильных лактобацилл, подвергнутых шоку, усилило выраженность сырного вкуса и аромата и ликвидировало горечь [53]. Положительный эффект был выше с *Lbc. helveticus*, чем с болгарской палочкой. В другом опыте для усиления выраженности вкуса Чеддера с уменьшенным на одну треть содержанием жира в молоко вносили культуры *Lbc. helveticus* с ослабленной гликолитической активностью (распылительной сушкой при 82 или 120° С, замораживанием); в опытных сырах увеличивалось содержание аминного азота и улучшался вкус [504]. Благодаря ослабленной гликолитической активности лактобациллы не изменили скорость кислотообразования во время выработки сыра.

Добавление в молоко для выработки Чеддера, наряду с обычной закваской, 10^6 КОЕ/мл лактобацилл ускорило протеолиз и формирование органолептических показателей [125]. Сатиева и Гаврилова ускорили созревание Костромского и Пошехонского сыров использованием в качестве закваски 0,75% лактококков и 0,25% термофильных лактобацилл [1640].

Греческие ученые увеличили на 35% количество растворимого в ТХУ азота в рассольном сыре Фета добавлением в молоко нейтральной или кислой протеиназ микробиального происхождения (*B. subtilis* и *Aspergillus oryzae*) и шокированных нагреванием культур термофильного стрептококка и болгарской палочки [1122]. Опытные сыры в 40-суточном возрасте имели вкус и консистенцию, подобные вкусу и консистенции 80-суточных контрольных сыров, однако для сбалансирования вкуса и аромата в опытные сыры необходимо также добавлять липазу. Увеличение количества бактериальных протеиназ приводило к появлению горечи.

Сделана попытка улучшить потребительские свойства маложирного сыра Чеддер введением в закваски педиококков [83]. Опытные сыры отличались от контрольных ускорением протеолиза и более высоким содержанием сероводорода, метанэтанов, играющих важную роль в формировании аромата сыров, ацетатов. Маложирные сыры, выработанные с использованием в составе закваски педиококков, имели выраженные вкус и аромат полножирного сыра, отсутствующий у контрольных сыров. Однако в опытном сыре в 2-месячном возрасте появились кристаллы лактата, которых не было в контрольных сырах на протяжении 4–5 мес созревания, что обусловлено трансформацией педиококками L(+)-лактатов в D(–)-лактаты [1088]. Использование для этой цели микрококков привело к появлению привкусов в сыре [83].

Беловым с соавт. установлено сильное влияние особенностей протеолиза заквасок одного и того же видового состава на органолептические показатели Советского сыра [1218]. Наивысшую оценку в их опытах получили сыры с минимальным содержанием фракции небелкового азота и средним содержанием аминного азота (отношение небелкового азота к аминному – 1,89), в сырах с минимальной оценкой это отношение равнялось 2,0–3,0; в сырах с низкой оценкой более интенсивно расщеплялся β-казеин. Разница между оценками сыров высокого и низкого качества в этих опытах составила 4 балла. К сожалению, в опыте не учтено влияние незаквасочной микрофлоры на протеолиз.

В крупных сырах с поздним вспучиванием наблюдается более интенсивное расщепление белков, что, по мнению Steffen, стимулируется излишним развитием пропионовокислых бактерий [1023, 1028]. В дефектных сырах, например, активность лейцинаминопептидазы была в 2,3 раза выше, а количество лактатов в 1,6 раза ниже, чем в сырах без порока. В этом случае причиной позднего вспучивания следует считать те факторы, которые способствовали интенсификации протеолиза в дефектных сырах, поскольку протеолитическая активность самих пропионовокислых бактерий слишком низка, чтобы заметно изменить степень протеолиза в сыре. Высокое содержание небелкового азота приводит к формированию крошливой, малосвязной консистенции; недостаточный протеолиз – к слабовыраженному вкусу, нетипичной консистенции, неравномерному рисунку [1025].

Можно считать, что для органолептических показателей сыра вреден недостаточный и избыточный протеолиз, особенно вызываемый посторонней микрофлорой, продукты которого отличаются от продуктов протеолиза микрофлорой закваски количественно и качественно.

Влияние продуктов трансформации аминокислот на органолептические показатели сыра. Во время созревания аминокислоты подвергаются трансформации путем декарбоксилирования, дезаминирования, десульфурилирования и деметиолирования (рис. 11.6). Продукты трансформации аминокислот играют важную роль в формировании органолептических свойств сыров.

В результате декарбоксилирования аминокислот образуются амины. Их содержание в сыре может повлиять на показатели безопасности продукта, что рассмотрено в гл. 13, а также представляет интерес с точки зрения формирования вкуса и аромата. Декарбоксилирование происходит под действием декарбоксилаз, образуемых микроорганизмами; микрофлора заквасок и гомоферментативные лактобациллы амины в сырах не образуют (разд. 13.9). Правда, Морина полагает, что некоторые штаммы молочнокислых бактерий образуют незначительные количества летучих аминов в питательных средах, но это не значит, что они будут образовывать амины в сыре [1526, 1527]. Тем не менее амины в сырах есть, особенно в сырах с длительным созреванием или хранением. В табл. 11.12 показано, например, содержание аминов в крупных сырах, вырабатываемых в Швейцарии. В твердых и мягких сырах, вырабатываемых в Польше, содержание тирамина варьировало в пределах 3,8–575 мкг/г, гистамина – 0–157 мкг/г [314]. Содержание тирамина и гистамина в некоторых сырах показано в табл. 13.7.

***11.12. Содержание аминов в зрелых крупных сырах, мг/кг* [1025]**

Амины	Эмменталь	Грюйер	Аппенцеллер
Гистамин	32	66	173
Тирамин	42	37	57
Путресцин	1	5	2
Кадаверин	2	25	18

Амины попадают в сыры с молоком или образуются посторонней микрофлорой, например, энтерококками, гетероферментативными лактобациллами (*Lbc. buchneri*). Содержание аминов в Грюйере и Аппенцеллере выше, чем в Эмментале, что обусловлено участием поверхностной слизи в созревании первых двух видов сыров. *Br. linens* обладает способностью декарбоксилировать аминокислоты и образовывать амины. В культуральной среде этого вида нашли шесть летучих аминов (кадаверин, моноэтиламин, монометиламин, диметиламин, триэтиламин и аммоний) и два нелетучих: тирамин и гистидин. Tsugo & Hasono считают, что кадаверин и путресцин, образующиеся при декарбоксилировании, соответственно, лизина и орнитина, играют роль в формировании вкуса сыров, созревающих при участии белой плесени [1702]. Содержание путресцина и кадаверина в этих сырах в 3-недельном возрасте составило 724 и 537 мг/кг. В твердых сырах из пастеризованного молока кадаверин и путресцин (обладающие ядовитыми свойствами и неприятным запахом) большинство авторов или вообще не обнаруживали, или обнаруживали в мизерных количествах [1190].

Учитывая низкие концентрации аминов в сырах, можно считать, что их роль в формировании вкуса и запаха твердых сыров весьма сомнительна. Этому, на первый взгляд, противоречат результаты исследо-

ваний, выполненных под руководством Головни [1274, 1275, 1501]. В этих опытах до 35 летучих аминов обнаружено в Голландском и Российском сырах, в рассольном сыре Чанах. Между количеством и спектром летучих аминов в Российском и Голландском сырах наблюдалось большое сходство, хотя по вкусу эти сыры имеют заметные различия. Не было существенных различий между общим содержанием летучих аминов в Российском и Голландском сырах, рассольном сыре, которое равнялось соответственно 36,2; 39,8 и 39 мг/кг. Различия обнаружены в количестве отдельных аминов. В сыре Чанах среди летучих аминов в количественном отношении доминировал ди-н-бутиламин, относительное содержание которого в Российском и Голландском сырах не превышало 2%; в Российском и Голландском сырах максимальная концентрация была у диизопропиламина (около 9%), а в сыре Чанах этот амин присутствовал в следовых количествах. Увеличение продолжительности хранения Российского сыра при минус 3° С до 10 мес существенно изменило содержание в нем некоторых аминов (табл. 11.13) [1275]. За 6 мес хранения балловая оценка сыра снизилась с 93 до 89 баллов, а количество летучих аминов увеличилось в 1,28 раза, в основном за счет пиперидина и α-пиколина. Авторы этих работ считают возможным увязать снижение качества сыра с увеличением в сыре содержания летучих аминов. Вряд ли такое предположение корректно, так как оценка сыра снизилась в основном за консистенцию, оценка за вкус и запах понизилась только на один балл. Причастность летучих аминов к формированию консистенции, учитывая их мизерные концентрации, сомнительна.

***11.13. Изменение содержания некоторых азотистых веществ (мкг/кг) в Российском сыре* [1275]**

Вещество	Содержание в сыре	
	4 мес	10 мес
Пиридин	36,0	4,9
Пиперидин	1,2	50,0
α-Пиколин	8,8	80,0
Триэтиламин	6,0	3,1

Независимо от того, принимают или не принимают участие в формировании органолептических свойств сыров амины, производство сыра нужно вести так, чтобы их содержание было минимальным и не могло вызвать опасность для здоровья потребителя. Количество аминов в сыре Гауда увеличивается при высоких температурах созревания (18–21° С), продолжительном созревании, с развитием в сырах гетероферментативных лактобацилл, в частности *Lbc. buchneri* [511]. Солеустойчивые лактобациллы, попадающие в сыр из рассола низкого бактериального качества, образуют в сырах путресцин и кадаверин; энтерококки могут образовать амины, если их содержание в сыре превысит 10^7 КОЕ/г [510].

Manning & Robinson из летучей фракции зрелого Чеддера, имеющей запах сыра, выделили три серосодержащих соединения, образованные из метионина: метантиол, диметилсульфид и сероводород [680, 679]. Метантиол (CH_3SH) был обнаружен в двух сырах, выработанных в асептических условиях с применением закваски и обладающих нормальным вкусом и ароматом, но не был найден в параллельных сырах, выработанных с применением лактона глюконовой кислоты вместо закваски и не обладающих необходимым вкусом и ароматом, а также в сырах из обезжиренного молока. H_2S обнаружен во всех четырех сырах, но его содержание в сырах с нормальным вкусом и ароматом было в два раза выше, чем в безвкусных сырах. Диметилсульфид обнаружен во всех сырах в равных концентрациях. Авторы сделали вывод о необходимости метантиола для формирования вкуса и аромата сыра Чеддер и об участии в этом процессе H_2S [679]. Образуется метантиол микрофлорой закваски (в сырах, выработанных в асептических условиях без закваски, он не был обнаружен). По-видимому, в его образовании принимает участие H_2S [678]. Коэффициент корреляции между вкусом зрелого Чеддера и содержанием в нем H_2S составляет 0,66–0,79 [583]. Однако мнения о роли метантиола во вкусообразовании в твердых сычужных сырах, например, в Чеддере расходятся. Некоторые считают ее весьма существенной [381, 652], Aston & Douglas ее отрицают [35].

В опытах Barlow et al. на вкус сыра Чеддер наибольшее влияние оказывали серосодержащие соединения, особенно H_2S, молочная кислота, бутанон, общее содержание водорастворимого азота и уксусной кислоты. Авторы считают, что по содержанию водорастворимого азота и H_2S в 3-месячных сырах можно предсказать вкус 12-месячных сыров [48]. Dacrement & Vickers считают наиболее важными для формирования вкуса и аромата Чеддера масляную кислоту, диацетил и метантиол [207].

По-видимому, наиболее верной является третья точка зрения: в твердых сырах метантиол и сероводород играют положительную роль только в определенных концентрациях, превышение которых ведет к появлению пороков вкуса [678]. Скорее всего, метантиол оказывает воздействие на вкус и аромат Чеддера, вступая в реакции с другими веществами с образованием таких соединений, как тиоэфиры, например, метилтиоацетат.

Метантиол играет важную роль в формировании вкуса и аромата грибных сыров и сыров, созревающих с участием поверхностной слизи и плесневых грибов. В частности, он принимает участие как компонент и предшественник в формировании характерного для многих грибных сыров «чесночного» вкуса и запаха. Интересно, что метантиол и H_2S в чистом виде обладают крайне неприятными запахами. Сернистые соединения обладают низким вкусовым порогом; они растворимы в жире, но не в воде, что частично объясняет отсутствие сырного вкуса в сырах из обезжиренного молока [295]. Некоторые сернистые соединения присутствуют в молоке, из которого почти полностью переходят в сыр, что

увеличивает их концентрацию в сыре по сравнению с исходным молоком примерно в 10 раз.

Singh & Kristoffersen считают, что диметилсульфид играет важную роль в формировании вкуса и аромата крупных сыров, но только при определенной концентрации [970]. Избыток его ухудшает вкус сыров. В крупных сырах диметилсульфид образуют пропионовокислые бактерии.

Часть жирных кислот с короткой цепочкой и карбонильных соединений также образуется в результате катаболизма аминокислот (рис. 11.6). В сыре Гауда обнаружены молочная, пропионовая и пировиноградная кислоты, содержание которых увеличивалось, и оротовая и уксусная кислоты, содержание которых уменьшилось во время созревания [530].

Установлено образование из карбонильных соединений (глиоксаль, метилглиоксаль, дигидрооксиацетон, ацетальдегид) и САК (валин, лейцин, изолейцин, метионин, цистеин, фенилаланин, пролин и лизин) ароматических соединений сыров, в том числе 2-ацетил-тиазола из цистеина и метилглиоксаля и алкилпиразинов из лизина и дигидрооксиацетона [387]. В образовании этих соединений принимают участие лактобациллы [63].

Сырные вкус и аромат являются результатом тесного взаимодействия продуктов протеолиза и липолиза. Silverman & Kosikowski отмечают, что смеси жирных кислот в водных растворах имеют неприятный и прогорклый вкус, который передается сырной массе при их внесении [964]. Смеси аминокислот придают свежей сырной массе приятный вкус, слегка напоминающий вкус Швейцарского сыра. Добавление же аминокислот и жирных кислот дает приятный острый вкус, напоминающий вкус зрелого Чеддера.

11.3.3. Липолиз, летучие жирные кислоты, карбонильные и другие соединения в формировании вкуса и аромата сыров

Липолиз всегда происходит в сырах во время созревания и влияет на формирование специфических органолептических показателей сыров. Как правило, степень липолиза в сырах из пастеризованного молока ниже, чем в сырах из сырого молока, что частично объясняется потерей активности липазы молока во время пастеризации. Степень липолиза варьирует в широком диапазоне в зависимости от класса и вида сыров. Основным продуктом гидролиза жира являются свободные жирные кислоты (СЖК), по содержанию которых оценивают его степень в сырах. Содержание СЖК возрастает по мере созревания сыра (рис. 11.25), что коррелирует с повышением выраженности и остроты сырного вкуса. В сырах, вырабатываемых только с молочнокислыми бактериями, содержание СЖК составляет 0,25–2,0% от общего количества жирных кислот в сыре, в то время как в Рокфоре этот показатель равен 8–10%, в «голубом» сыре – 18–25% [1748]. В молоке СЖК составляют 0,5 ммоль/100 г жира, в умеренно зрелом сыре Гауда их содержание повышается до 1 ммоль, в сыре с высокой степенью

зрелости – до 3 ммоль [1147]. Сыры с низким содержанием СЖК имеют умеренно выраженный сырный вкус [295].

Для усиления выраженности вкуса и аромата низкожирных сыров иногда гомогенизируют часть сливок, используемых для нормализации молока, что ускоряет гидролиз жира [229]. При выработке Чеддера в асептических условиях внесение в молоко в дополнение к лактококкам *Lbc. casei* увеличило содержание СЖК с длиной цепи больше 4 [331].

Следует отметить, что степень липолиза, определяемая по общему содержанию СЖК, завышена, так как только жирные кислоты с числом атомов углерода более 4 образуются в сыре исключительно в результате гидролиза жира; СЖК с короткими цепочками образуются из жира, углеводов и аминокислот. В результате расщепления аминокислот, например, образуются пропионовая, изомасляная, изовалериановая, фенилуксусная и бензойная кислоты. Reiter et al. считают, что на состав СЖК в сыре большое влияние оказывает сезон и качество молока: летние сыры содержат больше кислот с длиной цепочки 4 и выше [878].

Динамика образования СЖК в сыре Чеддер из пастеризованного и сырого молока представлена на рис. 11.25 [583]. В большинстве сыров, которые созревают при участии только лактобактерий, СЖК присутствуют в той же пропорции, в которой содержатся в молочном жире (Stadhouders et al., 1958) [1190]. В этих сырах степень липолиза характеризует общая сумма СЖК или, что более правильно, сумма СЖК, содержащих более 4-х атомов углерода [1236]. Среди летучих жирных кислот доминирует уксусная кислота, образуемая при гетероферментативном молочнокислом брожении. Ее содержание в сырах может составлять до 80% от общей суммы летучих СЖК. Kristoffersen & Gould не нашли корреляции между содержанием уксусной кислоты, как и любой другой жирной кислоты, и вкусом Чеддера [583, 584]. Они полагают, что со вкусом Чеддера лучше коррелирует отношение молярного содержания СЖК к содержанию H_2S, в котором содержание СЖК (с количеством атомов углерода больше 4) характеризует липолиз, а содержание сероводорода – катаболизм серосодержащих аминокислот. В сырах со сбалансированным вкусом это отношение равнялось 11,7–17,6; в сырах с «сероводородным» привкусом – 5,1–9,3 и сырах с привкусом «жирных кислот» – 22,0–36,8. По наблюдениям Ельцовой (1961), повышенное содержание в сыре сероводорода, образуемого из серосодержащих аминокислот, является причиной тухлого вкуса и запаха [1190]. По Morgan, затхлые вкус и запах вызывает летучее азотистое соединение – 2-метокси-3-алкилдипиразин в результате роста *P. graveolens* [746].

Сыры других классов, в состав необходимой микрофлоры которых входят не только лактобактерии, имеют специфический состав СЖК. Например, в Камамбере доминирует олеиновая кислота, в Рокфоре много СЖК с короткими цепочками, в некоторых итальянских сырах, например в Проволоне, содержится много масляной кислоты [57, 1748].

Эти сыры отличаются высокой специфичностью вкуса и аромата. Нет сомнения, что качественные особенности состава СЖК в сырах Камамбер и Рокфор обусловлены особенностями липолиза, осуществляемого микрофлорой, участвующей в их производстве и созревании, а в сыре Рокфор из овечьего молока – также составом молочного жира. Поскольку метаболизм плесневых грибов, применяемых для их производства, отличается от метаболизма лактобактерий не только количеством и составом СЖК, трудно оценить степень влияния СЖК на вкус и аромат этих сыров. Можно, однако, полагать ее высокой, учитывая низкий вкусовой порог и достаточно большую концентрацию СЖК в грибных сырах.

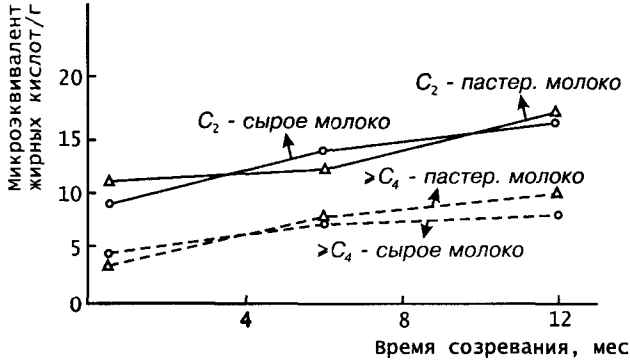


Рис. 11.25. *Изменение содержания жирных кислот во время созревания Чеддера* [583]

Итальянские сыры типа Проволоне отличаются специфичностью применяемого для их производства препарата молокосвертывающих энзимов, обладающего не только протеолитической, но и липолитической активностью (разд. 11.2.3), что и обусловливает образование в них больших количеств масляной кислоты; в этих сырах масляная кислота играет центральную роль в формировании специфического вкуса и аромата. В то же время во всех других сырах масляная кислота вызывает пороки вкуса и аромата, выраженность которых растет с увеличением концентрации кислоты. В сырах с высокими температурами II нагревания специфичность вкуса и рисунка во многом обусловлена продуктами пропионовокислого брожения. Состав СЖК в этих сырах может очень сильно варьировать (табл. 11.14) [1025]. Из приведенных в таблице данных видно, что Эмменталь отличается от двух других видов более интенсивным пропионовокислым брожением: содержание в Эмментале пропионовой кислоты превышало ее содержание в сырах Грюйер и Аппенцеллер соответственно в 8,45 и в 3,47 раза, а содержание молочной кислоты, которая сбраживается пропионовокислыми бактериями, наоборот, было ниже в 3,54 и в 1,5 раза. Причиной меньшей интенсивности пропионовокислого брожения в сырах Грюйер и Аппенцеллер являет-

ся высокий уровень их посолки: средняя концентрация NaCl в этих сырах равнялась 1,59 и 1,62% при 0,44% в Эмменталe ($A_в$ в них равна 0,948; 0,962 и 0,972 соответственно) [1025].

11.14. Среднее содержание летучих жирных кислот и молочной кислоты в зрелых крупных сырах (ммоль/кг)

Компоненты	Эмменталь	Грюйер	Аппенцеллер
Общее кол-во летучих к-т	124,0	33,1	73,7
Уксусная	41,0	18,3	41,8
Пропионовая	83,7	9,9	24,1
Изомасляная	–	–	0,4
н-Масляная	–	3,1	4,4
Изовалериановая	–	0,9	2,2
Изокапроновая	–	–	0,9
Молочная	29,9	106	44,9

В наиболее распространенном отечественном сыре этого класса – Советском – содержание пропионовой кислоты находится в пределах 13,5–27,0 ммоль/кг, что сопоставимо с ее содержанием в Грюйере и Аппенцеллере; это касается и содержания соли [1556]. Повышение содержания соли уменьшает степень выраженности специфического вкуса в крупных сырах, но повышает их стойкость к маслянокислым бактериям. В крупных сырах с нормальным вкусом пропионовая кислота составляет 40–60% от общего количества летучих жирных кислот [1736].

Эмменталь по сравнению с Грюйером и Аппенцеллером имеет более выраженный специфический для этого класса сыров вкус и аромат. Для Советского сыра характерна умеренная выраженность вкуса и аромата. Для получения хорошо выраженного вкуса и аромата соотношение между содержанием пропионовой и уксусной кислот должно быть больше 1. В Эмменталe по молярным концентрациям оно в среднем равно 2, в Грюйере – 0,54, в Аппенцеллере – 0,57, в Советском сыре – 0,5–0,6. Снижение отношения содержания пропионовой кислоты к уксусной происходит из-за ингибирования размножения пропионовокислых бактерий или изменения продуктов пропионовокислого брожения в связи с неблагоприятными условиями для жизнедеятельности возбудителей брожения. Уксусная кислота в сырах образуется также в результате размножения гетероферментативных лактобацилл незаквасочного происхождения [1025, 1315].

Между Эмменталем, Грюйером и Аппенцеллером имеются различия по содержанию летучих изомерных кислот (табл. 11.14). Скорее всего, это связано с более интенсивным развитием в двух последних видах гетероферментативных лактобацилл, которые причастны к образованию рисунка в Аппенцеллере, или/и с развитием микрофлоры по-

верхностной слизи, которое практикуется при производстве швейцарского Грюйера и Аппенцеллера [387]. Появление этих кислот может быть связано с липолизом, но вероятнее всего – с дезаминированием аминокислот. Об их влиянии на вкус и аромат сыров ничего неизвестно. Концентрации этих кислот в сыре очень низкие, что увеличивает относительную ошибку их количественного определения.

Анализ кислых летучих соединений в восьми первосортных швейцарских сырах Грюйер во время созревания выявил этановую, бутановую, пропановую, гексановую, 2-метилбутановую, пентановую, октановую и декановую (в порядке снижения концентрации) и гидроксибензоловую СЖК [103].



Уманский Марк Соломонович род. 1941 г.

Уманский с соавт. изучили влияние заквасок с различной липолитической и фосфолипазной активностью на формирование органолептических показателей Советского сыра [1711]. Сыры лучшего качества получены на закваскаx, обладающих высокой липолитической и фосфолипазной активностью. В этих сырах отношение содержания пропионовой кислоты к уксусной равнялось 1,16, тогда как в сырах с низкой липолитической активностью оно равнялось 0,69–0,75, с низкой фосфолипазной активностью – 0,76. Максимальное содержание СЖК было в сырах, выработанных с закваской, обладающей высокой липолитической активностью.

В производстве мелких сыров закваски из *Lc. cremoris* + *Leuconostoc* образовывали в сырах больше СЖК, чем закваски из *Lc. cremoris* + *Lc. diacetylactis* [1101].

В 22–24-месячном Пармезане содержание СЖК составило 495 мг/100 г, что сопоставимо с их содержанием в Грюйере [138]. Пармезан относится к терочным сырам, в производстве которых пропионовокислые бактерии не принимают заметного участия. Достаточно высокое содержание в нем СЖК связано с длительным созреванием. Между содержанием СЖК и органолептическими показателями в этом сыре существует тесная корреляция, причем общее содержание кислот оказывало большее влияние на органолептические показатели, чем содержание кислот с длинной цепью.

Бирман и Уманский для характеристики жирнокислотной специфичности штаммов *Lbc. helveticus*, *Lc. lactis*, *Str. thermophilus* и *Prb. freudenreichii* ввели три коэффициента [1236]:

- K_1 – отношение в стерильном молоке с мелом (для пропионовокислых бактерий – в молоке с дрожжевым гидролизатом) после инкубации испытываемой культуры суммы концентраций жирных ки-

слот с длиной цепи от 4 до 8 атомов углерода к сумме концентраций уксусной и пропионовой кислот;

- K_2 – отношение концентраций ненасыщенных и насыщенных кислот (длина цепи от 16 до 22 атомов углерода);
- K_3 – отношение концентраций изомерных жирных кислот с числом атомов углерода от 4 до 22 к содержанию нормальных жирных кислот с такой же длиной цепочки.

Выявлены различия по значениям этих коэффициентов между представителями родов и штаммами одного и того же вида. У испытанных штаммов K_3 был слишком низким, ошибка в его определении могла быть очень большой, поэтому его авторы не стали учитывать при отборе штаммов в закваски. Лучшие органолептические показатели имел Советский сыр, выработанный на закваске, составленной из штаммов с максимальными значениями K_2 (0,87–1,04) и средними (0,086–0,847) K_1. Эти сыры имели хороший вкус, хорошую или отличную консистенцию и нормальный, иногда редкий рисунок. Самую низкую оценку получили сыры, в закваски для которых вносили штаммы с максимальными для этого вида значениями K_1; у них были кислый вкус, фруктовый привкус, легкая прогорклость, пороки рисунка. Таким образом, высокое содержание СЖК с длиной цепи от 4 до 8 атомов углерода оказало негативное влияние на вкусовые показатели Советского сыра. Жирные кислоты с углеродной цепочкой до 12:0 имеют выраженный вкус и запах (табл. 11.15) [92]. Поскольку в обезжиренном или низкожирном сыре типичные для сычужных сыров вкус и аромат не формируются, а СЖК являются продуктами гидролиза жира, обладающими низким вкусовым порогом, они должны участвовать в формировании вкуса этих сыров.

В сырах с высоким уровнем липолиза, например, в Камамбере, специфический вкус СЖК входит в букет сыра, в твердых же сырах при высоких концентрациях СЖК он классифицируется как прогорклый [1549]. В сыре Комте прогорклость отмечают при степени липолиза 6,2 мэкв/100 г жира [1748], тогда как в сырах Данаблю и Мицелла, созревающих при участии *Pen. roqueforti*; нормальные вкус и аромат формируются при кислотности жира 30–50 мэкв/100г [769]. Таким образом, содержание летучих СЖК в твердых сырах должно быть ограничено, что следует учитывать при подборе микрофлоры заквасок. Ohren & Tuckey отмечали, что для получения хорошего вкуса и аромата сыра Чеддер общее содержание летучих жирных кислот или его отношение к содержанию уксусной кислоты должно находиться в определенных пределах [795]. В сырах, выработанных в асептических условиях в отсутствие незаквасочной микрофлоры, прогорклый вкус не образуется, как, правда, не образуются и хорошо выраженные сырный вкус и аромат.

Высокомолекулярные жирные кислоты, образующиеся в результате гидролиза жира, составляют в твердых сырах 2–4% общего содержания СЖК. В отличие от низкомолекулярных, они не имеют вкуса и за-

паха, поэтому не оказывают или оказывают небольшое влияние на органолептические показатели сыра [1190].

11.15. Вкусовые пороги летучих СЖК в воде и минеральном масле [92]

Кислоты	Порог восприятия, млн$^{-1}$	
	вода	минеральное масло
2:0	54,0	–
6:0	5,4	2,5
8:0	5,8	350,0
10:0	3,5	200,0
12:0	–	700,0

Изучена способность образовывать летучие ароматические соединения штаммами *Lbc. delbrueckii subsp. lactis* и *Lbc. fermentum* в питательной среде и швейцарском Грюйере (табл. 11.16) [479]. Существенные отличия в образовании карбонильных соединений в питательных средах между штаммами гомоферментативного и гетероферментативного видов лактобацилл проявились: в сырах с *Lbc. lactis* общее содержание карбонильных соединений равнялось 55,7, в сырах с *Lbc. fermentum* – 29,1 мкмоль/кг. Однако авторы не нашли корреляции между общим содержанием карбонильных соединений и органолептическими показателями сыров.

11.16. Синтез ароматических веществ Lbc. delbrueckii subsp. lactis и Lbc. fermentum, мкмоль/л

Соединения	Среда	*Lbc. fermentum*	*Lbc. lactis*
Ацетальдегид	15,26	81,10	468,60
Ацетон	34,10	11,02	33,08
Уксуснометиловый эфир	–	2,51	–
Уксусноэтиловый эфир	–	3,01	следы
Бутанон-2	–	1,32	следы
Этанол	0,13	365,00	3,29

Швейцарские ученые (Bosset, Liardon et al., 1994) детально исследовали летучие соединения в сырах Грюйер, вырабатываемых в Швейцарии [103]. Ими идентифицированы 8 щелочных компонентов, в т. ч. алкилпиразины, индол и бензоптиазол. За исключением бензоптиазола, азотосодержащие компоненты обнаружены только в поверхностных слоях сыра, что указывает на их образование микрофлорой сырной слизи, участвующей в созревании швейцарского Грюйера.

Из нейтральных летучих компонентов обнаружены: 16 первичных спиртов, 6 вторичных спиртов, 5 кетоспиртов, 19 кетонов, преимущественно с нечетным числом атомов углерода, 6 альдегидов, 7 эфиров и

1 лактон, а также 9 второстепенных компонентов, содержащих в основном ароматические углеводы и некоторые серосодержащие вещества. Анализ наружных слоев с коркой, покрытой слизью, средней и центральной зон выявил градиенты концентрации для некоторых из этих летучих компонентов.

Прослежено изменение содержания щелочных и нейтральных летучих веществ во время созревания в течение 12 мес. По крайней мере, содержание трех групп летучих нейтральных и щелочных компонентов во время созревания увеличилось, причем более заметно в поверхностных слоях. Увеличение было почти экспоненциальным для метилкетонов и вторичных спиртов, которые являются продуктами липолиза, и почти линейным для индола и пиразина. Содержание кетоспиртов существенно уменьшается в период со 2-го по 6-ой мес созревания. Количества альдегидов, δ-додекалактона, бензотиазола, ароматических углеводородов и других компонентов почти не изменялось. Снижалось содержание однозамещенного фуранона и двузамещенных бензохинонов. Летучие соединения, обнаруженные в центральной зоне, присутствовали и в поверхностных слоях.

Состав летучих СЖК в швейцарском Грюйере показан выше. СЖК в сыре подвергаются дальнейшей трансформации, в частности повторной этерификации и окислительному расщеплению. Повторная этерификация прежде всего касается кислот с короткой или средней длиной цепочки. Для этой цели необходимы алифатические (этанол), ароматические (фенилэтанол) моноспирты, тиоспирты (метантиол), образуемые микроорганизмами: БГКП, дрожжами, лейконостоками, лактококками и др. [1748]. Реакция происходит под действием эстераз, синтезируемых микрофлорой. Получающиеся в итоге повторной этерификации жирных кислот (но не уксусной или пропионовой) соединения вызывают в сырах нечистый, фруктовый и другие привкусы.

При окислительном расщеплении из жирных кислот в сыре образуются метилкетоны, вторичные спирты и другие соединения. Метилкетоны – 2-гектанон и 2-нонанон и в меньшей степени 2-пентанон, 2-пропанон, 2-андеканон, 2-тридеканон, соответствующие вторичные спирты играют ключевую роль в формировании вкуса и аромата грибных сыров.

Липолиз необходим для формирования органолептических показателей твердых сыров, но он не должен превышать определенный уровень. Повышение липолиза выше критического уровня вызывает такие пороки, как прогорклый вкус и запах, нечистый, фруктовый, салистый привкусы. Оно может быть вызвано использованием низкого в бактериальном отношении качества молока, молока с высоким содержанием соматических клеток, неудовлетворительными пастеризацией и санитарными условиями выработки сыра, низкой активностью микрофлоры заквасок, плохим уходом за поверхностью сыра, в результате чего на поверхности сыров размножаются микроорганизмы с высокой липолитической активностью (плесени, дрожжи, коринебактерии, микрофлора слизи).

Карбонильные соединения (кетоны, альдегиды, метилкетоны) образуются из β-кетокислот молочного жира, но могут образовываться и из углеводов [295]. Вкусовой порог их выше, чем масляной кислоты или сернистых соединений. Корреляции между содержанием карбонильных соединений и ароматом Чеддера не обнаружено.

11.3.4. Образование рисунка

Рисунок – важный показатель сыров. Он характеризует правильность протекания биохимических и микробиологических процессов, физико-химические свойства сырного теста. В сырах, формуемых из пласта под слоем сыворотки, рисунок формируется в результате образования газов микрофлорой сыра. Если газообразование в сыре осуществляет только микрофлора заквасок и пропионовокислые бактерии, продуцирующие углекислый газ, то глазки имеют сферическую или овальную форму; при размножении в сырах посторонней микрофлоры, образующей не только CO_2, но и H_2, плохо растворимый в сырной массе, глазки имеют неправильную, рваную форму.

Глазки появляются при давлении газов внутри головки сыра примерно на 0,3 бар выше уровня, при котором сырная масса насыщается газами, и наличии нужного количества центров их образования [1147]. Нормальный рисунок в мелких сырах образуется при наличии примерно 200 центров в 1 кг сыра [13]. Образование газа должно идти с более высокой скоростью, чем его выделение из головки, что зависит от температуры, вида и содержания газообразующей микрофлоры, формы и размеров головки сыра. Центры образования глазков представляют маленькие пузырьки азота, оставшиеся после связывания кислорода воздуха микрофлорой закваски, обычно адсорбированные на механических частицах или поверхностях жировых шариков. Их количество зависит от насыщенности молока воздухом. Если скорость кислотообразования в сыре не очень велика, а пластичность сырной массы достаточна, то глазки имеют сферическую форму. Если сырная масса разрушается при малых деформациях (хрупкая консистенция), то могут образовываться самокольные трещины. Последнее характерно для сыров с низкими уровнями pH, $A_в$, содержания фосфата кальция. При образовании в сыре H_2 насыщение сырной массы газами происходит слишком быстро, что ведет к резкому росту давления газа и микроразрушениям материала, образованию неправильного рисунка.

Иной точки зрения на образование глазков придерживается Белоусов. Он считает, что в сформованном сыре в местах стыка сырных зерен имеются пустоты, заполненные сывороткой, в которых собирается газ, в результате чего появляются глазки.

В Эмментале и сырах этого типа основное количество CO_2 образуется при сбраживании лактатов пропионовокислыми бактериями. Только небольшое количество газа появляется до начала пропионовокислого брожения. Резкое увеличение скорости газообразования начинается по-

сле помещения этих сыров в теплую камеру (20–24° С) [1025]. Во время нахождения в теплой камере давление газа в головке сыра поддерживается на относительно невысоком уровне (1500–2500 Па) из-за низкой сопротивляемости сырной массы давлению газа. Снижение температуры после выхода сыра из теплой камеры увеличивает сопротивляемость сырной массы, и давление газа повышается до 4000–8000 Па. Если на этой стадии созревания газообразование продолжается, то появляются щелевидный рисунок, самокол.

В мелких сырах образование рисунка заканчивается в первые 10 сут. При позднем газообразовании пластичность сырного теста снижается из-за затвердевания глицеридов при температурах созревания и также может образоваться щелевидный рисунок или самокол. По Перфильеву (1998), лучший рисунок в мелких сырах получается, если количество газообразующей микрофлоры заквасок достигнет максимума в 3–5-суточных сырах.

11.3.5. Влияние редокс-потенциала и температуры созревания на органолептические показатели сыров

Поскольку редокс-потенциал определяет статус системы дисульфиды/сульфгидрилы в казеине и энзимах, он должен влиять на протеолиз и липолиз в сыре, а значит – и на формирование органолептических показателей. Kristoffersen et al. показали, что скорость формирования вкуса и аромата в сыре Чеддер возрастает при увеличении в нем содержания сульфгидрильных групп (-SH), а количество этих групп в сыре снижается даже после мягкой тепловой обработки молока (61,7° С в течение 5 мин) и увеличивается в результате выдержки молока перед выработкой сыра при 37°С в течение 5 ч [585]. Начало активного расщепления β-казеина микрофлорой закваски примерно через месяц после выработки может быть связано с низкой концентрацией сульфгидрильных групп в сыре в начале созревания. Созревание пастеризованного молока с закваской должно снижать редокс-потенциал и увеличивать содержание -SH групп. Сульфгидрильные группы во время созревания сыра выполняют роль акцепторов водорода в окислительных процессах. Во время пастеризации молока сульфгидрильные группы взаимодействуют с белками и теряют способность акцептировать водород. Полагают, что это одна из причин более выраженного вкуса и аромата сыров из сырого молока, проявляющегося даже если молоко после пастеризации инокулировать микроорганизмами, присутствующими в сыром молоке. Инактивация природных энзимов молока во время пастеризации может быть вызвана связыванием -SH групп.

На содержание сульфгидрильных групп и редокс-потенциал сыра оказывает влияние посторонняя микрофлора. Нормальный уровень Eh в сыре равен примерно минус 200 мВ [585]; при достаточном развитии БГКП он снижается (а количество -SH групп увеличивается), что стиму-

лирует прорастание спор и размножение маслянокислых бактерий. Искусственное снижение редокс-потенциала в сыре Чеддер, вырабатываемом в асептической ванне с закваской, до минус 250 мВ путем добавления 500–2000 частей/млн. цистеина в молоко или сгусток приводит к увеличению содержания сероводорода – в 13–16, метантиола – в 2,1–3,6 раза, ухудшению и небольшому снижению степени выраженности сырного вкуса; в сырах, выработанных с глюконо-δ-лактоном вместо закваски, редокс-потенциал имел положительную величину, несмотря на добавление цистеина, сероводород не был обнаружен, сырный вкус отсутствовал [1532].

Температура созревания играет важнейшую роль в формировании органолептических показателей сыров. Протеолитические энзимы лактобактерий, используемых в производстве твердых сыров, имеют оптимальные температуры в интервале от 30 до 42° С; оптимальные температуры для действия молокосвертывающих энзимов находятся на уровне выше 40° С. Таким образом, оптимальные температуры для развития микроорганизмов закваски и действия молокосвертывающих энзимов – основных факторов созревания твердых сыров – намного выше температур, при которых созревают сыры. Заманчива перспектива ускорить созревание сыра, повысив температуру его созревания. Имеются экспериментальные данные, подтверждающие ускорение в сырах протеолиза при повышении температуры созревания (Макарьин и Гибшман, 1955; Моисеева, 1953; Амундштад, 1951; ван Слайк, Прайс и др.) [1190]. Сыры Чеддер, вырабатываемые в обычной и асептической ваннах и созревающие при 13° С, имели в 6-месячном возрасте более выраженный вкус, чем сыры, созревающие при 6° С, в 9-месячном возрасте [613]. Сыры Чеддер, созревающие при 8 и 15° С, имели одинаковую консистенцию через 16 и 8 недель созревания соответственно [682]. По-видимому, более высокая скорость формирования сырного вкуса и аромата в сырах, созревающих при 13° С, обусловлена не только повышенной скоростью реакций, участвующих непосредственно в созревании, но и более ранним высвобождением внутриклеточных энзимов микроорганизмов закваски, поскольку количество живых клеток в них в течение первых двух недель созревания уменьшилось в 39,6–40,1 раза, а в сырах, созревающих при 6° С, – только в 13,2–18,0 раз. Лизис клеток лактобактерий ускоряется с повышением температуры созревания, что способствует формированию органолептических показателей сыров [613]. Однако повышение температуры созревания интенсифицирует рост посторонней микрофлоры и может изменить направленность биохимических процессов, что повышает опасность появления пороков органолептических показателей и снижает показатели безопасности сыров.

Aston et al. установили, что дефекты вкуса сыра Чеддер появляются при температуре созревания выше 15° С [33]. Повышение температуры созревания мелких сыров с 13 до 26° С увеличило усушку с 8,5 до 13,1%, привело к выделению жира, что снизило выход и ухудшило консистенцию. Тем не менее, корректировка температур созревания в допустимых

пределах может иметь важное значение. Сыры с низкими температурами II нагревания созревают при температуре от 8 до 16° С. При температуре ниже 11° С созревание идет медленно и сыры получаются со слабо выраженным вкусом и ароматом. Пониженные температуры созревания – одна из главных причин появления горечи [230]. Повысить выраженность вкуса и аромата можно, увеличив срок созревания сыра, как это практикуют в производстве Чеддера (Чеддер созревает от 3 до 12 мес), но это удорожает производство. С другой стороны, при возникновении опасности позднего вспучивания созревание нужно вести при 10° С, чтобы не испортить сыр [651]. Скорость размножения маслянокислых бактерий при этой температуре настолько сильно снижается, что позднее вспучивание не произойдет в течение 2–3 мес созревания, но и степень выраженности вкуса и аромата сыра будет слабой. При более высокой температуре скорость развития *Cl. tyrobutyricum* быстро возрастает.

Фрайер показал, что формирование сырного вкуса в Чеддере идет при 15° С значительно быстрее, чем при 7,5° С, но это относится также и к наличию и степени выраженности посторонних привкусов, вызываемых лактобактериями незаквасочного происхождения [1722]. По его мнению, сыр может созревать при 15° С в том случае, если содержание в нем незаквасочных лактобактерий в 14-дневном возрасте не превышает 10^6 КОЕ/г. Fedrick et al. вырабатывали Чеддер с различными температурами созревания: контрольные сыры созревали 32 недели при 8° С, температуру созревания опытных сыров повышали до 13 и 20° С в середине созревания на протяжении 4–16 недель [307]. Опытные сыры в 16–21-недельном возрасте имели такую же степень выраженности сырного вкуса, как контрольные в 24–32-недельном возрасте, при этом дефектов вкуса в опытных и контрольных сырах не было. По-видимому, в их опытах исходное заражение сыров посторонней микрофлорой было низким.

В табл. 11.17 показано влияние температуры созревания на образование жирных кислот во французском сыре Грюйер [68, 377]. В сырах варианта А1, созревающих при пониженной температуре в течение 9 мес, по сравнению с сырами других вариантов, созревающих при более высокой температуре в течение 4 мес, содержалось в 2,86–3,51 раза меньше пропионовой и в 1,5–1,6 раза уксусной кислот, а молочной кислоты, наоборот, в 1,67–2,1 раза больше. Эти цифры однозначно свидетельствуют об ингибировании низкими температурами сбраживания лактатов пропионовокислыми бактериями. Отношение содержания пропионовой кислоты к уксусной в сырах варианта А1 равно 0,61, в сырах остальных вариантов – 1,15–1,33. В крупных сырах с типичным и хорошо выраженным вкусом это отношение должно быть больше 1. Этому условию не удовлетворяли сыры, созревающие при 9,7° С. Соль в использованных дозах не повлияла на образование пропионовой и уксусной кислот; на образование С:4; С:5 и С:6 не повлияли ни температура созревания, ни степень посолки. Интересно, что в крупных сырах содержание D(–)-лактата превышает содержание L(+)-лактата: в полнозрелых сырах среднее

содержание D(–)-лактата составляет 295 мг/100 г, содержание L(+)-лактата 38,3 мг/100 г [68]. Обусловлено это использованием пропионовокислыми бактериями только L(+)-лактатов.

11.17. Образование лактатов и ЛЖК в зрелых сырах Грюйер де Комте в зависимости от температуры созревания и содержания соли, мг/100 г

Показатели	А1	А2	А3	А4
Температура, ° С	9,7±1,3	16,5±0,6	17,5±0,2	16,5±0,3
Содержание соли, г/100 г сухого вещества	0,42±0,16	0,17±0,24	0,47 ±0,36	0,54±0,21
Время созревания, мес	9	4	4	4
L-лактат	441	267	202	269
D-лактат	574	340	279	341
Общее кол-во лактатов	1015	607	481	610
Уксусная кислота	141	220	227	210
Пропионовая кислота	86	254	302	246
Масляная кислота	13	19	19	17
Изовалериановая кислота	7	9	11	9
Капроновая кислота	2	3	3	3

11.3.6. Ускорение созревания сыров

Ускорение созревания сыров имеет большое экономическое значение. Интенсифицировать формирование органолептических показателей твердых сыров можно, ускорив протеолитические и липолитические процессы, биохимические и химические реакции трансформации продуктов гликолиза, протеолиза и липолиза. Теоретически ускорить эти процессы можно технологическими методами [1190]. Они заключаются в повышении влажности и температуры созревания, снижении активной кислотности и степени посолки. Однако эти факторы, ускоряя реакции, лежащие в основе формирования вкуса, аромата, консистенции и рисунка, одновременно создают более благоприятные условия для развития посторонней микрофлоры, вызывающей пороки или снижение показателей безопасности сыров. Кроме этого, изменяя физико-химические условия в сырах, можно изменить и характер метаболизма микрофлоры, необходимой для формирования типичного вкуса сыров, направленность биохимических реакций.

Повышение pH мелких сыров с 5,2–5,3 до 5,7–5,8 дает возможность размножаться в сырах протеолитическим видам анаэробных и факультативно анаэробных бактерий, снимает главное препятствие для активного роста в сырах стафилококков, шигелл, сальмонелл, масляно-кислых бактерий и других вредных для сыроделия микроорганизмов. Пока сыроделие будет находиться на уровне, при котором невозможно исключить попадание посторонней микрофлоры в сыр, изменять физико-химические показатели сыров можно только в очень узком диапазо-

не, чтобы не ухудшить условия для развития необходимой и не улучшить их для вредной микрофлоры.

Движущей силой созревания мелких сыров являются молокосвертывающие энзимы и энзимы микрофлоры закваски. Ускорять созревание сыров повышением дозы молокосвертывающих энзимов нельзя, так как это увеличивает количество образующихся в сыре горьких пептидов. Увеличение же биомассы молочнокислых бактерий и количества образуемых ими энзимов весьма привлекательно, так как в этом случае можно ускорить созревание сыров при сохранении присущих им органолептических показателей. В 50–60-х годах пытались увеличить биомассу молочнокислых бактерий в сыре за счет увеличения дозы или активизации закваски [1190]. Однако этими способами можно увеличить скорость накопления, но не выход биомассы молочнокислых бактерий, который определяется количеством источников энергии в сыре, в частности лактозы, уровнем pH и титруемой кислотности. Лебедева, Климовский и Гибшман (1955) показали, что повышение дозы закваски при выработке Голландского сыра с 0,4 до 4,0% увеличивает содержание бактерий в пласте в два раза, почти не изменяя его в сыре [1190]. Stadhouders (1960, 1961) нашел, что при повышении дозы закваски с 0,01 до 10% объем микрофлоры и скорость протеолиза в сыре не повысились [1190]. Это понятно, так как увеличение дозы закваски ускоряет сбраживание лактозы в сгустке во время выработки сыра и количество лактозы, остающейся в сформованном сыре, снижается. Правда, небольшое увеличение биомассы бактерий в сыре за счет повышения дозы закваски имеет место, так как интенсификация молочнокислого брожения в сырной ванне снижает pH сыворотки и сырного зерна, что несколько изменяет характер массообмена между сырной массой и сывороткой в направлении увеличения количества лактозы и молочной кислоты и снижения количества Ca и P, остающихся в сыре [205, 1316]. В результате этого несколько увеличивается активная кислотность и снижается содержание Ca в сыре, что снижает качество сыра (появляются кислый и горький вкус, крошливая консистенция, самокол) [1316, 1535]. Увеличение дозы закваски для выработки голландского сыра Финбо с 1,5 до 3,0% существенно ухудшило его консистенцию [49]. Низкая доза закваски (0,2%) в производстве Эмменталя приводила к формированию горького вкуса, белесой окраске теста, высокая (свыше 2%) способствовала излишней обсушке зерна, появлению кислого, нечистого вкуса [593]. Появление горечи при использовании повышенных доз закваски характерно для Чеддера [613]. Слишком большая плотность микрофлоры заквасок в конце выработки интенсифицирует образование горьких пептидов в сырах (разд. 11.3.2).

Активизация закваски внесением ее в смесь до внесения молокосвертывающего энзима, с выдержкой заквашенного молока в течение 1–2 ч имеет те же недостатки, что и увеличение дозы, и повышает опасность бактериофага. Такая активизация закваски увеличивает содержание растворимого и растворимого небелкового азота в сыре на 6 и 5% соответственно [1190].

Широкий диапазон изменения содержания микроорганизмов в сыре в период максимума – в мелких сырах $(1,5–4)\cdot10^9$ КОЕ/г – может вызвать сомнения в правильности высказанного предположения о сравнительно небольшой вариабельности биомассы микрофлоры заквасок в сыре. Однако доступные для небольших лабораторий методы позволяют определить в сыре только живые клетки бактерий, а количество живых клеток обусловлено не только уровнем размножения микробов, но и скоростью гибели клеток, которая зависит от штаммового состава заквасок, наличия бактериофага. Скорость лизиса клеток варьирует в широких пределах, что и отражается на содержании живых клеток.

Несмотря на отмеченные недостатки, повышение дозы заквасок может быть рекомендовано при снижении по каким-либо причинам скорости молочнокислого брожения в сырной ванне. Активизация закваски, например, может быть полезной при необходимости переработки незрелого молока (но не снижении активности закваски из-за бактериофага).

Выше показано, что активность лактобацилл, особенно термофильных, в накоплении САК выше, чем лактококков. Мезофильные лактобациллы всегда есть в сырах, но в мелких сырах их содержание в сотни раз ниже, чем лактококков, поэтому вклад лактобацилл в созревание этих сыров, вырабатываемых на лактококковых закваска, сравнительно небольшой. Включение мезофильных лактобацилл в закваски повышает их содержание в сырах в десятки раз и увеличивает степень влияния на формирование органолептических показателей сыров.

Сказанное в еще большей степени относится к термофильным лактобациллам, которые влияют на созревание мелких сыров только при внесении в достаточных количествах в смесь для выработки сыра (во время созревания мелких сыров термофильные лактобациллы не размножаются).

Использование лактобацилл в производстве мелких сыров повышает скорость кислотообразования во время выработки, стимулируя размножение лактококков, что ведет к появлению тех же пороков, какие возникают при использовании высоких доз заквасок. Кроме этого, увеличение количества лактобацилл в мелких сырах вызывает появление пряного, сладковатого привкуса, характерного для крупных сыров.

Тем не менее увеличение биомассы лактококков и лактобацилл применяют для ускорения созревания. Для того чтобы это не вызвало повышения скорости кислотообразования в сырной ванне и образования лактококками горьких пептидов, применяют ряд мер: биомассу лактобактерий увеличивают внесением в смесь для выработки сыра, в дополнение к обычной закваске, клеток лактозо-негативных мутантов, культур, находящихся в состоянии шока, достигаемого нагревом мезофильных лактобацилл при 56–60° С, термофильных – при 67–70° С или быстрым замораживанием. Применяют также лизированные клетки, клеточные стенки или бесклеточные экстракты, обладающие протеолитической, но не гликолитической активностью [3, 5, 806, 1077]. Внесение в смесь для выработки сыров концентрата клеток лактококков, поте-

рявших способность сбраживать лактозу, ускорило созревание сыров на 30 дней, улучшило их органолептические показатели и стойкость в хранении [377]. Исследования в Норвегии и Австралии показали, что продолжительность созревания сыров можно ускорить на 1–3 мес с улучшением органолептических показателей применением мутантных штаммов лактококков, не сбраживающих лактозу [1077].

Использование в дополнение к обычной закваске лактозо-негативных, протеиназо-положительных мутантных штаммов лактококков повышает общее содержание клеток лактококков в сырах в 3–10 раз без изменения кислотности, увеличивает содержание азота САК в 1,7–2,0 раза и скорость гибели стафилококков и сальмонелл [169, 550].

El-Soda et al. получили положительные результаты в ускорении созревания Чеддера, добавляя в сырную массу неразрушенные клетки *Lbc. casei* в количестве 10^8 КОЕ/г в момент посолки, т. е. когда сбраживание лактозы в основном закончено [284].

Для усиления выраженности вкуса и аромата низкожирных сыров часто используют культуру *Lbc. helveticus*, подвергнутую тепловой обработке. Добавление ее в молоко ускоряло расщепление пептидов даже в первые недели созревания, предотвращало образование горечи [30].

Литовский сыр, выработанный с добавлением в молоко 0,85% обычной и 3% шокированной нагреванием лактококковой закваски, в 45-суточном возрасте имел степень зрелости по Шиловичу на 5° выше, чем контрольный, выработанный с внесением в молоко 1% обычной лактококковой закваски. Оценка опытного сыра превышала оценку контрольного на 1,2 балла [1745].

Внесение в сгусток экстрактов из *Lbc. helveticus*, *Lbc. bulgaricus* и *Lbc. lactis* увеличило отношение растворимого азота к общему, по сравнению с контролем, на 19, 26 и 48%, содержание ЛЖК – на 30, 43 и 64% соответственно [285]. В сырах с *Lbc. lactis* на 2-ом мес созревания появилась горечь, интенсивность которой увеличивалась по мере созревания сыра. Для предупреждения горечи авторы рекомендуют вносить энзимы методом инкапсулирования. Добавление в ультрафильтрат молока, из которого вырабатывали сыр Гауда с применением замороженных клеток *Lbc. helveticus*, отобранных в начале стационарной фазы роста, уменьшало горечь [549].

Внесение в молоко для сыра Гауда в дополнение к обычной закваске 5% шокированных нагревом клеток лактококков (56±0,5° С с выдержкой 17 с) увеличило количество клеток лактококков в сыре в 2–4 раза, улучшило его вкус и сократило продолжительность созревания на 25% [296].

Внесение в молоко для выработки египетского сыра Рас (сыр с температурой II нагревания 44° С и добавлением 1–2% соли в зерно с досаливанием сухой солью) 2% культуры *Lbc. helveticus*, шокированной замораживанием и хранением в течение 24 ч при минус 20° С или подвергнутой шоковой тепловой обработке в цельном молоке при 70° С в течение 18 с и быстро охлажденной до 42° С, увеличило скорость нако-

пления растворимых азотистых соединений и свободных жирных кислот и сократило сроки созревания с 4 до 2 мес [20, 298]. Положительные результаты по ускорению созревания этого сыра получены добавлением в молоко шокированной замораживанием культуры *Lbc. casei*, не сбраживающей лактозу [283].

Добавление в молоко бесклеточных экстрактов из дрожжей *Kluyveromyces fragilis* или *Lbc. casei* позволило сократить продолжительность созревания мягкого сыра с 60 до 30 сут и улучшило его качество [412].

Для ускорения созревания сыра применяют протеолитические и липолитические энзимы из других, чем лактобактерии, источников. В этом случае проблема состоит в том, чтобы сохранить типичные органолептические показатели сыра и предотвратить протеолиз и липолиз во время выработки, чтобы не допустить снижения выхода сыра.

Исследовано влияние смеси липаз, включая липазы животного происхождения и *Asp. oryzae*, протеинкиназы (препарат *Flavour Age sp.*) – на созревание сыра. Смесь добавляли в количестве 2–4 г/100 кг молока. Добавление препарата ускоряло созревание. Общая оценка контрольного и опытных сыров в 3-суточном возрасте составила 65 и 74 балла, в 90-суточном возрасте – 81 и 71 балла соответственно. В опытных сырах в 90-суточном возрасте появилась горечь, которая увеличивалась с увеличением дозы препарата [958].

Исследовали влияние липазы *Geotrichum candidum* и фосфатазы *Aspergillus awamori* на продолжительность созревания и качество сыров с низкой температурой II нагревания [1644]. Добавление липазы усиливало липолиз, увеличило содержание СЖК в зрелом сыре на 30–70%. Масштабы и глубина гидролиза белков, интенсивность молочнокислого брожения не изменялись. Отмечено ускорение созревания сыров. Добавление фосфатазы повышает уровень фосфатазной активности сырной массы на 30–35%. Ее действие в сыре усиливает дефосфорилирование белков, что приводит к углублению протеолиза. Содержание небелковых азотистых соединений возрастает на 15–20%, в т. ч. САК на 20–30%.

Добавление в зерно смеси протеаз и липаз *Pen. roqueforti* в количестве 0,02% ускоряло формирование вкуса и аромата, улучшало органолептические показатели грибных сыров [856].

Испытания промышленных препаратов протеолитических и липолитических энзимов (Рулактина, Пиккантазы, Максацима, Капалазы, Палатазы, Нейтразы, Италазы SP 257, липазы ягнят) для ускорения созревания сыра Рас показали, что они, кроме Палатазы, ускоряют созревание, но Максацим дает горький вкус [282]. Сравнительные испытания препаратов Nature Age (смесь липазы, протеиназ и жизнеспособных клеток) и Flavour Age (смесь протеиназы и липазы) в количестве 110 мг/кг и 20 мг/кг соответственно выявили преимущества первого с точки зрения органолептических показателей; продолжительность созревания сыра Рас снизилась до 8 недель [286]. Добавление к препаратам Нейтра-

зы (33 мг/кг молока) или Рулактина (83 мг/кг), бесклеточных экстрактов из *Lbc. helveticus* или *Lbc. casei* ускоряло созревание при снижении дозы энзима [282].

Частично очищенную внеклеточную аминопептидазу из *Br. linens* использовали для ускорения созревания сыра Чеддер. Аминопептидаза нестойка в кислом буфере, но была очень стойкой в сыре. Органолептические показатели сыра при сочетании аминопептидазы и Нейтразы были выше, чем при использовании одной Нейтразы [414].

Для ускорения созревания при транспортировке энзимов в сыр в качестве носителей чаще всего используют многослойные липидные везикулы (липосомы), которые повышают стабильность энзимов в процессе выработки, обеспечивают их высвобождение на нужной стадии производства и тем самым снижают потери с сывороткой белка и жира [554, 1001, 1489]. Использование инкапсулированных энзимов уменьшает опасность формирования горечи [1001], что свидетельствует об образовании горьких пептидов на первых стадиях производства, когда не произошел лизис липосом.

В опытах французских и египетских ученых протеолитический энзим, предназначенный для ускорения созревания сыра, инкапсулировали в липосомы и вносили в молоко для выработки сыра. Липосомы удерживали энзим во время выработки, а в сырах он высвобождался и начинал действовать [4]. Этим способом предотвращали потери белка в сыворотку, которые возможны при использовании неинкапсулированного энзима. В производстве сыра Домиати наилучшие результаты получены с Пиккантазой [19].

Во вкусе и аромате мягких сыров важную роль играют метилкетоны. Для ускорения созревания сыров типа Голубого в молоко вносили липосомы, содержащие молочный жир, панкреатическую липазу, споры *Pen. roqueforti* и буфер, которые предварительно выдерживали при 10° С [811]. Во время выдержки в липосомах накапливались метилкетоны, снижалось содержание СЖК. Метилкетоны в липосомах, переносились в сыр, где освобождались и принимали участие в формировании вкуса и аромата.

Для ускорения созревания сыра Чеддер использовали лизоцим, инкапсулированный в декстране [1174]. Лизоцим, освобождаясь в сырах, лизирует клетки микрофлоры закваски и тем самым включает в работу внутриклеточные энзимы на более ранних, чем обычно, стадиях созревания.

Отмечают ускорение протеолиза и формирования органолептических показателей в белом рассольном сыре и Чеддере предварительным энзиматическим гидролизом лактозы в молоке [1656].

Ускоряет созревание внесение зрелого сыра в молоко или в свежий сгусток [283]. В опытах египетских ученых 0–5% зрелого сыра Рас вносили в ультраконцентрат молока для выработки рассольного сыра Домиати, добавляли к смеси реннет в количестве 3 г/100 кг, разливали смесь в полимерную тару, накрывали, выдерживали до полного сверты-

вания, хранили при 8–10° С. Добавление сгустка зрелого сыра ускоряло расщепление белка, гидролиз жира и улучшало качество получаемого сыра. Сыры наилучшего качества получали при внесении 5% зрелого сыра Рас с последующей выдержкой в течение 2 мес [280]. Внесение в молоко для выработки грибных сыров 1–2% гидратированного зрелого сыра Рокфор ускоряло созревание и улучшало качество продукта [856].

Датская фирма A/S Einer Willumsen разработала и организовала выпуск серии сырных ароматизаторов в виде паст и порошков, сырьем для которых служат зрелые сыры [165].

Во ВНИИМС создан препарат для ускорения созревания мелких сычужных сыров на основе гидролизата белков молока и метаболитов лактобактерий [1645, 1647]. 0,05–0,10% препарата в молоке стимулирует кислотообразование и рост микрофлоры закваски, сокращает время обработки зерна, ускоряет протеолиз, усиливает выраженность вкуса и аромата, улучшает консистенцию и рисунок, сокращает сроки созревания на 25–30%, увеличивает выход сыра на 24–28%.

Алексеевым доказана возможность улучшения качества и ускорения созревания мелких сыров внесением в молоко или в гидролизованную закваску дрожжей *Torulopsis 304*, не сбраживающих лактозу [1190]. Дрожжи медленно размножаются в первые 5–10 сут, затем постепенно вымирают, но даже в 60-суточных сырах содержится по несколько тысяч клеток дрожжей в 1 г. В опытных сырах содержание растворимого азота повышалось на 20–25%, небелкового – на 25–30%, витаминов B_1 – на 25 и B_2 – на 12%, качество сыра в среднем повысилось на 2–3 балла.

Применение заквасок, содержащих лактобактерии и дрожжи *Debaryomyces hansenii* (10^5–10^6 клеток/мл), ускорило протеолиз и улучшило качество итальянского сыра Пекорино Романо [297]. Эти дрожжи также размножались в сырах, в частности в корке.

Алексеев считает, что дрожжи усиливают биохимическую активность лактобактерий и тем самым ускоряют созревание сыра. Усиление биохимической активности может быть связано с поддержанием дрожжами низкого уровня редокс-потенциала и повышением pH среды за счет использования молочной кислоты. Выше указывалось, что высокая концентрация SH-групп, высвобождающихся при низком Eh, – необходимое условие для быстрого формирования органолептических показателей сыров.

Алексевым для ускорения созревания мелких сыров предложена новая закваска, получившая название «гидролизованной» [1190]. Суть ее состоит в том, что при приготовлении лактококковой закваски вместе с инокулятом в молоко вносят реннет в той дозе, которая необходима для выработки сыра с приготавливаемым количеством гидролизованной закваски. Концентрация сычужного порошка в гидролизованной закваске в 120–160 раз превосходит его содержание в смеси для выработки сыра, что обусловливает интенсивный гидролиз белков. Инокулированное молоко с сычужным порошком выдерживают 20–24 ч при 22–24° С для накопления биомассы лактококков. В гидролизованой закваске со-

держание САК в 3–4 раза превышает их количество в обычной закваске, что является следствием лизиса части клеток лактококков и высвобождения эндоферментов. Применение гидролизованной закваски вместо обычной активизирует рост лактококков; по содержанию продуктов протеолиза, включая САК, сыры с гидролизованной закваской в месячном возрасте не уступали 2-месячным сырам с обычной закваской. Недостатком гидролизованной закваски является невозможность сенсорной оценки ее качества.

11.4. Заключение

Органолептические показатели твердых сыров формируются во время выработки, заключающейся в сычужном свертывании молока, отделении от сгустка большей части влаги с растворенными веществами, биотрансформации большей части лактозы и цитратов, посолке сырной массы и последующего созревания, во время которого происходит биотрансформация большей части казеинов и небольшого количества липидов, а в крупных сырах также лактатов, во вкусовые и ароматические соединения сыра. Основными движущими силами биотрансформации являются молокосвертывающие энзимы, молочнокислые бактерии и пропионовокислые бактерии. В созревании крупных сыров важную роль играет плазмин – естественная щелочная протеиназа молока. Лактобактерии незаквасочного происхождения, попадающие в сыр с молоком и из окружающей среды, во время выработки в зависимости от исходного количества, видового состава могут играть как отрицательную, так и положительную роль в формировании органолептических показателей сыра. Относительно небольшую роль в созревании играют чисто химические процессы трансформации компонентов молока.

Качество сыра зависит от видового и штаммового состава заквасок и препаратов пропионовокислых бактерий, качества молокосвертывающих энзимов и физико-химических условий в сырной массе, создаваемых во время выработки и созревания, особенно температуры, кислотности, активности воды. Существенную роль играет качество исходного молока.

ГЛАВА 12

ПОРОКИ СЫРА

Под пороками понимают отклонения органолептических показателей сыра от установленных для этого вида характеристик. Причинами пороков могут быть: несоответствие состава и свойств молока предъявляемым сыроделием требованиям, нарушения технологии и санитарных правил производства, низкое качество молокосвертывающих энзимов, заквасок и других микробиальных препаратов, конструктивные недостатки или нарушения правил эксплуатации технологического оборудования и инвентаря. Одна и та же причина может вызвать несколько пороков сыра и по существу все предыдущие главы были нацелены на выявление оптимальных условий проведения каждой операции в производстве, позволяющих выработать сыр, в максимальной степени удовлетворяющий требования потребителей. В этом и заключается главная задача науки о сыре. Однако на практике чаще стоит обратная задача, когда известен порок сыра и требуется установить причины его возникновения. Поэтому в этой главе описаны пороки сыра и основные причины их возникновения и предотвращения. Меры по устранению или предотвращению пороков вытекают из закономерностей, установленных в других главах, что приводит к некоторому дублированию материала.

12.1. Пороки вкуса и запаха

12.1.1. Горький вкус

Горький вкус – наиболее распространенный порок сычужных сыров с низкими температурами II нагревания. В крупных сырах он встречается редко, что обусловлено особенностями протеолиза в этих сырах. В соответствии с ГОСТ «Сыры сычужные твердые. Технические условия» сыры с легкой горечью оцениваются за вкус и запах 37–39 баллами из 45, что оставляет их по этому показателю в высшем сорте; сыры с выраженной горечью оценивают 30–36 баллами, т. е. относят к I сорту или бракуют.

Вещества, придающие сырам горечь, могут попадать в сыр с молоком, минеральными добавками ($NaCl$, $CaCl_2$, KNO_3) или образовываться в сыре при расщеплении казеина.

Горький вкус молока при выходе из вымени чаще всего обусловлен наличием в кормах горьких дикорастущих трав: полыни, лютика, сурепки, едкого поручейника, горчицы полевой, дикого лука и чеснока, люпина, пижмы, ромашки, чемерицы, плюща, тысячелистника, донника. Горечь в этих травах обусловлена глюкозидами, эфирными маслами, не разрушаемыми в организме коровы. Во время выработки сыра они концентрируются в белковой и липидной фазах сыра, поэтому вызываемая ими горечь становится в сырах более выраженной, чем в исходном молоке [1191, 1314].

Горечь в молоке может возникнуть при скармливании дойным коровам больших количеств сырого картофеля, турнепса, гнилой свеклы, брюквы, свекольной ботвы, однако неизвестно, передается или нет эта горечь сырам. Горечь, обусловленная наличием горьких веществ в молоке, обнаруживается в сыре сразу после выработки и не прогрессирует при созревании. Ее не устранить технологическими методами.

Горькие вещества, преимущественно соли магния, могут попадать в сыр с солью и хлористым кальцием низкого качества. Высокие дозы $CaCl_2$ повышают опасность возникновения этого типа горечи. Большие дозы селитры также могут быть причинами появления горечи в сырах [230].

Наиболее частыми причинами горечи в сырах являются гидрофобные пептиды с молекулярным весом меньше 1400 [1133, 1139]. В сырах они образуются при расщеплении казеина реннетом и другими молокосвертывающими энзимами, лактококками закваски и посторонней микрофлорой. Реннет в сыре образует горькие пептиды из α-казеина. Другие молокосвертывающие энзимы возможно образуют горькие пептиды в сыре и из β-казеина [213]. Горечь в сырах, вырабатываемых с этими энзимами, встречается чаще, чем в сырах с реннетом [528]. Лактококки образуют горькие пептиды из $\varkappa$- и, в основном, из β-казеина с помощью протеиназ, локализованных на клеточной стенке, и экзопептидаз; Prt^--мутанты лактококков, не образующие экзопептидаз, горькие пептиды не образуют.

Горькие пептиды образуются во время выработки, что, по-видимому, обусловлено наиболее благоприятными условиями для действия протеиназ на этой стадии. Однако в свежих сырах горечь, обусловленная горькими пептидами, не проявляется. Возможно, концентрация горьких пептидов в сырах этого возраста недостаточно высока. По мере созревания содержание в сырах пептидов с молекулярной массой меньше 1400 повышается: в сырах 3-месячного возраста их содержание по отношению к содержанию общего азота увеличилось по сравнению с 1-месячными сырами в 1,49 раза, но в сырах 6-месячного возраста по сравнению с сырами 3-месячного возраста – только в 1,19 раза (табл. 11.3) [1133]. Сумма этих пептидов, образованных по отдельности реннетом и микрофлорой закваски, в сырах 1- и 3-месячного возраста была в 3 и 2 раза ниже их количества при совместном действии указанных факторов.

По-видимому, все лактококки при расщеплении казеинов образуют горькие пептиды, но штаммы, образующие горечь в сырах («горькие» штаммы), образуют их в больших количествах и в более широком диапазоне физико-химических условий среды, чем штаммы, не образующие горечи («негорькие» штаммы). Образуют горечь в сыре только те штаммы, биомасса которых при окончании прессования превышает 10^9 КОЕ/г, т. е. так называемые «быстрые» штаммы [661, 1515]. Протеиназы «негорьких» штаммов неактивны при температурах II нагревания больше 38° С; скорость размножения «негорьких» штаммов во время выработки ниже, чем у «горьких» штаммов, и количество их жизнеспособных кле-

ток в сырах после прессования обычно меньше 10^9 КОЕ/г [440, 607, 1019, 1138]. Из этого следует, что наиболее благоприятные условия для образования горьких пептидов или их предшественников из казеина создаются во время выработки сыра. Штаммы лактококков, относительно медленно размножающиеся на этой стадии производства, обычно горечи в сырах не образуют. Эти штаммы по сравнению с «быстрыми» обладают низкой протеиназной активностью, что, по-видимому, является причиной их медленного роста в молоке. Казалось бы, для предупреждения появления горечи в сырах в заквасках нужно использовать только «медленные» штаммы лактококков, однако низкая скорость размножения микрофлоры закваски во время выработки создает благоприятные условия для размножения технически вредной и патогенной микрофлоры, снижает выраженность вкуса сыра.

Масса горьких пептидов, образуемых в сыре молокосвертывающими энзимами, увеличивается при повышении количества остающихся в сыре энзимов [607, 1138]. Количество остающегося в сырной массе реннина и, возможно, пепсинов увеличивается пропорционально кислотности сыворотки в конце обработки зерна [440, 607, 1019]. Количество микробиальных молокосвертывающих энзимов в сыре от кислотности сыворотки не зависит.

Горькие пептиды в зрелых сырах в основном являются фрагментами β-казеина [1138], т. е. они образованы микрофлорой закваски, хотя молокосвертывающие энзимы образуют больше пептидов с молекулярной массой меньше 1400. Это обусловлено тем, что лактококки закваски с помощью внутриклеточных протеиназ разрушают горькие пептиды, образуемые молокосвертывающими энзимами из α-казеина, но не разрушают тех, которые образуют сами из β-казеина [1138]. *Скорость расщепления горьких пептидов* лактококками уменьшается при снижении pH и температуры созревания сыров. Пептидазы «негорьких» штаммов расщепляют горькие пептиды при pH больше 4,5, т. е. при любых значениях pH твердых сыров; «горьких» штаммов – при pH не ниже 5,5 [1049]. Сыры с низкими pH и температурой созревания почти всегда имеют горький вкус [607, 837, 1663]. «Негорькие» штаммы лактококков образуют в сырах значительно больше САК, чем «горькие», что свидетельствует о более активном расщеплении ими пептидов. Высокая кислотность в сыре может быть причиной горечи не только из-за ингибирования расщепления горьких пептидов микрофлорой закваски, но и потому, что сами лактаты кальция обладают горьким вкусом.

Возникновению пептидной горечи способствует переработка сычужновялого молока, молока с высоким содержанием соматических клеток, пастеризованного при температурах выше 76° С. Общим свойством такого молока является низкая скорость синерезиса, что приводит к выработке сыров с повышенной влажностью, а следствием этого является низкий pH сыров. Кроме этого, при переработке такого молока для улучшения его сычужной свертываемости и скорости обсушки зерна

часто повышают дозы молокосвертывающих энзимов и $CaCl_2$, что способствует появлению горечи в сыре. Эти меры не могут улучшить технологические свойства молока, поскольку дефекты его связаны с дефицитом казеина или с блокированием α-казеина денатурированным тепловой обработкой β-лактоглобулином [380, 491, 797].

Сычужновялое молоко, молоко с повышенным содержанием соматических клеток нельзя использовать для выработки сыров. Молоко, пастеризованное при повышенных температурах, можно использовать для выработки сыров только при радикальной модификации технологии [45, 1334, 1755].

Причиной горечи в сырах может быть высокая исходная кислотность молока, которая также ведет к снижению pH сыра, поскольку при высокой кислотности сыворотки во время выработки сыра, сырная масса теряет много Ca и P, что снижает ее буферность, и удерживает больше лактозы и молочной кислоты, что повышает общее содержание кислот в сыре [205, 1316].

Горечь в сырах в большой степени зависит от процесса выработки сыра, и прежде всего от скорости нарастания кислотности. Слишком высокая скорость кислотообразования снижает pH сыра по указанным выше причинам. Она может быть вызвана не только переработкой молока с повышенной кислотностью, но также высокими дозами закваски, загрязнением лактококковой закваски лактобациллами, низкими температурами II нагревания, продолжительной обработкой зерна. В какой-то мере снижение pH сыра из-за высокой скорости кислотообразования во время выработки можно уменьшить разбавлением сыворотки водой, но это одновременно снижает скорость синерезиса и уменьшает выраженность сырного вкуса [1147].

Факторы, обусловливающие высокую скорость кислотообразования во время выработки, одновременно увеличивают биомассу микрофлоры заквасок в сыре в конце выработки, что независимо от pH увеличивает опасность появления кислого вкуса. Лучшим способом регулирования скорости кислотообразования является изменение дозы закваски и температуры II нагревания, последнюю нужно держать, по возможности, на максимальном допустимом уровне.

Низкая скорость кислотообразования также может быть причиной снижения pH и появления горького вкуса в сырах, так как в этом случае сбраживание лактозы в сыре задерживается, и вся кислота, образуемая молочнокислыми бактериями при сбраживании лактозы после выработки сыра, остается в сыре. Минимальный уровень pH в сыре при этом наступает позднее, чем обычно. Кроме этого, низкая скорость кислотообразования во время выработки сыра создает более благоприятные условия для роста посторонней микрофлоры, которая может образовывать горькие пептиды и снизить показатели безопасности продукта. Таким образом, *поддержание скорости кислотообразования* во время выработки сыра на оптимальном уровне – необходимое условие преду-

преждения горечи в сырах и выработки сыра высокого качества по другим показателям.

Основными причинами низкой скорости кислотообразования при выработке сыра являются использование незрелого молока, молока, содержащего ингибиторы роста микрофлоры закваски, низкая доза закваски, высокие температуры II нагревания, высокая степень посолки в зерне, и главное – действие бактериофага. В последнем случае горечь в сырах вряд ли появится, так как бактериофаг, вызывая лизис клеток микрофлоры заквасок, с одной стороны, ограничивает возможности этой микрофлоры продуцировать горькие пептиды, с другой, интенсифицирует расщепление горьких пептидов, образованных молокосвертывающими энзимами за счет высвобождения внутриклеточных протеиназ лактококков.

Медленный рост кислотности во время выработки сыра, например, при переработке незрелого молока, снижает скорость синерезиса и увеличивает влажность сыра. Для ускорения синерезиса в этом случае повышают дозу закваски, снижают или полностью отменяют посолку в зерне.

В табл. 12.1 показано влияние посолки в зерне на влажность мелких сыров [1633]. При нормальной скорости синерезиса посолка в зерне помогает выработать сыр с оптимальным содержанием влаги после прессования, при низкой скорости синерезиса отрицательно влияет на продукт.

***12.1. Влияние посолки в зерне на содержание влаги в Голландском сыре* [1633]**

Внесено соли, %	Содержание влаги, %		
	зерно, конец обработки	сыр после пресса	зрелый сыр
0,0	55,3	41,4	36,9
0,3	56,1	43,6	40,0
1,2		45,3	42,1

На образование горьких пептидов в сырах большое влияние оказывает интенсивность посолки. Соль оказывает небольшое влияние на первичную стадию гидролиза α_{s1}-казеина – отщепление от него молокосвертывающими энзимами α_{s1}-I пептида, – последующий же гидролиз α_{s1}-I пептида сильно зависит от содержания соли в водной фазе сыра [213, 778]. Соль в большой степени ингибирует гидролиз β-казеина [401]. Вкусовой порог некоторых горьких пептидов из β-казеина (0,004 мМ) очень низкий [528]. Казалось бы, для сыров с посолкой в рассоле степень посолки не может оказать существенного влияния на образование горьких пептидов, поскольку соль медленно распространяется внутри головки сыра. Однако, микрофлора закваски начинает более или менее активно расщеплять β-казеин спустя 30 сут после выработки, когда соль уже достаточно проникла вглубь головки. Считается, что горечь редко встречается в сырах, содержащих больше 4,9% соли в водной фазе (2% и выше в сыре) [213, 401].

Степень опасности появления горечи в сырах зависит от видового и штаммового состава заквасок. В состав закваски не следует включать «горькие» штаммы лактококков. В ней должно быть достаточное количество клеток диацетильного лактококка или лейконостоков с низкой протеиназной активностью и высокой способностью расщеплять горькие пептиды [1017, 1308]. По Stadhouders, для получения сыра без горечи в закваске достаточно быть около 20% штаммов с высокой протеиназной и кислотообразующей активностью [1017]. Производитель сыра должен закупать закваски у фирмы, которая стабильно вырабатывает продукцию, представляющую минимальную угрозу в отношении образования горьких пептидов при условии соблюдения остальных требований к заквaскам.

То же необходимо сказать относительно препаратов молокосвертывающих энзимов, чья способность образовывать горечь зависит от степени их очистки [1385, 1386].

Горечь в сырах может возникнуть при переработке молока, содержащего более 10^6 КОЕ/мл психротрофов [848, 1443, 1756]. Сами психротрофные бактерии погибают при пастеризации, а их протеолитические и липолитические энзимы частично сохраняют активность и вызывают пороки вкуса и запаха. Способы предотвращения размножения психротрофов в молоке до опасного уровня изложены в разд. 6.7 и 7.3.3.

Раньше одной из главных причин появления горечи считали размножение в сырах маммококков (по современной номенклатуре *Ent. faecalis subsp. liquefaciens*) [1442]. Этот вид может вызвать горечь в сыре при массивном обсеменении молока энтерококками и низкой активности микрофлоры закваски. Молоко с высоким содержанием энтерококков непригодно для выработки сыра по общему содержанию бактерий. Энтерококки могут вызвать пороки в сыре, если пастеризованное молоко хранят при температуре больше 7° С или оно созревает без добавления закваски. Подробно роль энтерококков описана в разд. 3.2.8.

Горечь в сырах могут вызвать и другие представители посторонней микрофлоры, например, психротрофные штаммы энтеробактерий, но они могут размножиться в сыре до опасного уровня только при нарушении режима пастеризации молока и низкой активности заквасок.

Таким образом, имеется много причин образования горького вкуса в мелких сырах, что делает этот порок наиболее распространенным. По существу, отсутствие в сырах горечи можно гарантировать только при соблюдении всех требований в производстве сыра. Главное внимание нужно уделять скорости кислотообразования во время выработки сыра, которая должна быть не слишком высокой и не слишком низкой (оптимальная скорость кислотообразования оценивается по нарастанию кислотности сыворотки, pH сыров после прессования и минимальному уровню pH сыра), получению сыра с оптимальной влажностью, использованию препаратов $CaCl_2$, NaCl и молокосвертывающих энзимов соответствующей чистоты, строгому контролю доз внесения $CaCl_2$, селитры, молокосвертывающих энзимов, установлению содержания соли в вод-

ной фазе мелких сыров в пределах от 4,9 до 5,7%, применению качественных заквасок и молокосвертывающих препаратов, созреванию при адекватной температуре.

12.1.2. Кислый вкус

Кислый вкус – один из наиболее распространенных пороков отечественных сыров с низкими температурами II нагревания; он встречается и в сырах с высокими температурами II нагревания. Всем сырам с низкими температурами II нагревания, особенно с повышенным уровнем молочнокислого брожения, присущ кисловатый (слабокислый) вкус. Однако излишне кислый вкус рассматривается как серьезный порок, за который оценка за вкус сыров с высокими температурами II нагревания снижается до 33–36 баллов, с низкими – до 35–37 баллов. Большее снижение оценки крупных сыров за порок обусловлено тем, что в связи с ферментацией значительных количеств лактатов пропионовокислыми бактериями кислотность крупных сыров должна быть меньше, чем мелких. Разновидностью порока «кислый вкус» является «творожистый вкус», сочетающийся с малосвязной, рыхлой, творожистой консистенцией.

Основной причиной порока является высокое содержание в сырах органических кислот. В отечественных сырах с низкими температурами II нагревания с нормальным вкусом содержание молочной кислоты в сухом обезжиренном молочном остатке составляет 2,5–3,0% (примерно 2,0–2,5% в водной фазе), в сырах с кислым вкусом содержание кислоты – более 4,5% в сухом обезжиренном остатке (более 3,7% в водной фазе) [1430, 1485]. В зарубежных сырах голландской группы содержится не более 3% кислоты в водной фазе [1147]. Более низкое содержание кислоты в мелких сырах зарубежного производства обусловлено сильным разбавлением сыворотки водой во время их выработки. Кислый вкус значительно реже встречается в зарубежных сырах, но зато они более чувствительны к маслянокислому брожению.

Количество кислот в сырах зависит главным образом от содержания влаги и лактозы после прессования. В табл. 12.2 показано влияние степени разбавления сыворотки водой, от которой зависит концентрация лактозы в водной фазе сыра, на содержание кислоты и качество Костромского сыра [1485]. В сырах, выработанных без разбавления сыворотки водой, был более кислый и менее выраженный сырный вкус, в некоторых из них отмечен самокол. Консистенция опытных сыров была менее твердой. Сыры с высокой кислотностью медленнее созревали.

В табл. 12.3 показано влияние температуры II нагревания на содержание в Костромском сыре влаги, кислоты и его сенсорные показатели.

Снижение температуры II нагревания с 42° С до 38° С при прочих одинаковых условиях снизило pH сыров, повысило содержание влаги в сыре после прессования по отношению к контролю на 4,25%, содержание молочной кислоты – на 1,07% (содержание молочной кислоты в водной фазе осталось одинаковым), снизило общую балловую оценку

на 3,6 балла, в том числе оценку за вкус и запах на 1,2 балла. Разбавление сыворотки водой ликвидировало негативное влияние снижения температуры II нагревания на качество сыра.

***12.2. Влияние разбавления сыворотки водой на содержание молочной кислоты и качество Костромского сыра* [1485]**

Внесено воды, %	Влажность,%		pH		Кислота (%) в:		Оценка в баллах		
	после пресса	75 сут	после пресса	75 сут	сыре	водной фазе	вкус и запах	консистенция	рисунок
0	46,6	40,5	5,45	5,18	1,57	3,73	36,8	23,2	7,2
10	46,0	40,4	5,54	5,35	1,43	3,41	37,8	23.8	7,8
15	46,6	40,4	5,61	5,46	1,23	3,12	38,2	24,0	8,8

Алексеев считает оптимальными температурами II нагревания для Голландского круглого сыра 39–41° С, Степного – 40–42° С, Голландского брускового и Костромского – 41–43° С [1192]. Следует, однако, отметить, что выбор температуры II нагревания нужно проводить с учетом главным образом свойств молока и закваски: при низкой скорости синерезиса ее следует повышать, при высокой – держать на оптимальном для мелких сыров уровне 39–40° С.

***12.3. Влияние температуры II нагревания на влажность, кислотность и качество Костромского сыра* [1484]**

Темп. II нагрев., °С	Внесено воды, %	Влажность, %		pH		Мол. к-та, %		Оценка в баллах		
		после пресса	75 сут	после пресса	75 сут	сыр	водная фаза	вкус и запах	консистенция	рисунок
42 (конт.)	0	44,7	39,1	5,75	5,47	1,46	3,6	38,0	23,8	9,0
38	0	46,6	40,5	5,45	5,18	1,57	3,7	36,8	23,2	7,2
38	15	46,6	40,4	5,61	5,46	1,23	2,9	38,2	24,0	8,8

Содержание влаги в сыре в значительной степени зависит от продолжительности обработки зерна. Однако при низкой скорости синерезиса и нормальной скорости кислотообразования увеличение продолжительности вымешивания может привести к увеличению концентрации молочной кислоты и лактозы в водной фазе сыра, что ликвидирует или существенно уменьшает положительный эффект от снижения влажности сыра, а также понижает клейкость зерна. Увеличение продолжительности вымешивания при нормальной скорости синерезиса может привести к излишней обсушке зерна, снижению выхода сыра и появлению в нем различных пороков.

Широко распространено мнение о сильной зависимости влажности сыра от размеров зерна. В табл. 12.4 показано влияние размеров зерна

на влажность и качество Костромского сыра 45 %-ной жирности [1193]. Оптимальной величиной зерна для мелких сыров считают 4–6 мм.

***12.4. Влияние размера зерна при постановке на содержание влаги, pH и качество Костромского сыра* [1193]**

Размеры зерна, мм	Содержание влаги, %		pH		Оценка в баллах			
	п/п	75 сут	п/п	75 сут	вкус и запах	консистенция	рисунок	общая
4–6	45,4	41,5	5,63	5,26	39,6	24,2	8,8	92,6
2–4	44,6	41,0	5,69	5,27	39,6	23,4	7,4	90,4
6–8	46,3	41,9	5,58	5,24	39,4	23,6	7,2	90,2

Увеличение и уменьшение размеров зерна не оказало сильного влияния на содержание влаги, pH, вкус и аромат сыров. При этом консистенция и рисунок опытных сыров ухудшились, постановка более мелкого зерна увеличила количество сырной пыли, повысила отход жира в сыворотку.

Кислый вкус сравнительно редко встречается в крупных сырах. Среднее содержание молочной кислоты в крупных сырах зарубежного производства равняется: в Эмментале – 0,31% (0,88% в водной фазе), в Грюйере – 0,95% (2,66% в водной фазе) [887, 1025]. Низкое содержание молочной кислоты в Эмментале является результатом интенсивного сбраживания лактатов пропионовокислыми бактериями. Среди пороков Алтайского сыра кислый вкус составляет 2,3% [1528]. Появление кислого вкуса в сырах этого класса свидетельствует о недостаточно интенсивном пропионовокислом брожении, которое необходимо для формирования их специфических органолептических показателей. Более низкая кислотность крупных сыров обусловлена не только сбраживанием лактатов, но и более низким содержанием в них влаги. В отечественных крупных сырах после прессования оптимальное содержание влаги составляет 38–40%, в зрелом возрасте – 36–38% [396, 1192]. В зарубежных сырах этого класса влажность поддерживается на этом же уровне [1025]. В зрелом возрасте они имеют pH 5,5–5,7 [396].

Кислый вкус в сыре соседствует с горьким вкусом, что показано в предыдущем разделе. Творожистый вкус бывает при высоком содержании кислот в сыре и низких температурах созревания, снижающих скорость протеолиза.

Следует отметить, что высокая исходная кислотность молока, ведущая к появлению в сырах кислого и горького вкуса, не всегда связана с развитием в молоке микрофлоры. Кислотность также повышается при увеличении содержания в молоке казеина, она зависит от генотипа казеина, физиологического состояния и кормления коров. При систематическом поступлении на завод молока с повышенной кислотностью, обусловленной этими причинами, необходимо обязательно разбавлять сы-

воротку водой и/или применять закваски с лейконостоками в качестве газобразующей микрофлоры с таким расчетом, чтобы сыры имели оптимальный pH. Оптимальная кислотность молока для выработки твердых сыров равна 18–19° Т.

Таким образом, *для предотвращения порока «кислый вкус»* нужно вести выработку сыров так, чтобы получить оптимальные значения активной кислотности (pH) и влажности сыров после прессования, а в крупных сырах – также обеспечить требуемую интенсивность пропионовокислого брожения. Главными факторами регулирования кислотообразования и влажности сыров являются: использование сыропригодного молока, температура II нагревания, степень разбавления сыворотки водой, доза и состав бактериальной закваски (особенно наличие в ней лейконостоков), количество вносимой в зерно соли. Очень важно согласование режима выработки с составом и свойствами молока.

12.1.3. Слабовыраженные и нетипичные вкус и аромат

Слабовыраженный вкус и аромат, строго говоря, не являются пороками сыра. В ряде стран в реализацию поступает сыр, в частности Чеддер, с различной степенью зрелости и выраженности вкуса и аромата, от которой зависит его цена: чем выраженнее вкус и аромат сыра, тем выше цена сыра. Следует отметить, что среди потребителей имеются и любители сыров с хорошо выраженным, острым, и с умеренно выраженным вкусом. Однако градаций отечественных сыров по степени выраженности сырного вкуса нет, и сыры с недостаточно выраженным вкусом получают по этому показателю граневую оценку высшего сорта и, в зависимости от других показателей, часто переводятся в первый сорт. Как правило, сыры со слабовыраженным сырным вкусом имеют пороки и по консистенции, и по рисунку; пороки, чаще всего связанные с излишним липолизом, могут появиться и в сырах с острым, выраженным вкусом.

Иногда сыр имеет вполне приемлемые, но не характерные для данного вида органолептические показатели, на основании чего он может быть понижен в сортности или забракован. Примером этого могут служить мелкие сыры, в которых размножались пропионовокислые бактерии или термофильные молочнокислые палочки.

Недостаточная выраженность сырного вкуса и аромата может быть обусловлена низкой влажностью сыров после прессования, в результате чего уменьшается биомасса молочнокислых бактерий и замедляется скорость реакций образования вкусовых и ароматических веществ, низкими значениями pH и температуры созревания, высокой степенью посолки сыра. Повышенная активная кислотность в сырах с низкой влажностью может быть при переработке молока с высокой кислотностью, использовании больших доз закваски, загрязнении закваски для мелких сыров молочнокислыми палочками, что, в зависимости от вида и количества палочек, может резко повысить скорость кислотообразования во время выработки сыра в сырной ванне. Излишнюю обсушку зерна и

низкие температуры созревания часто применяют специально, чтобы предотвратить возможное развитие в сыре посторонней микрофлоры, в частности энтеробактерий, маслянокислых бактерий и других технически вредных и патогенных микроорганизмов. Однако чем ниже температура созревания, тем дольше сохраняют жизнеспособность возбудители токсикоинфекций, размножающиеся в основном во время выработки и на ранних стадиях созревания сыра [1310]. Низкие температуры созревания не снижают, а увеличивают риск токсикоинфекций. Предупреждать развитие посторонней микрофлоры нужно другими методами.

Интенсивное развитие в мелких сырах лактобацилл может вызвать появление пряного вкуса, характерного для крупных сыров и обусловленного образованием лактобациллами свободных аминокислот, обладающих пряным (глутаминовая и аспарагиновая кислоты) или сладковатым (пролин, оксипролин, аланин, треонин) вкусом. Этот вкус характерен для крупных сыров, а в мелких его рассматривают как нетипичный или посторонний. Причиной интенсификации размножения молочнокислых палочек в мелких сырах является низкая скорость размножения микрофлоры лактококковых заквасок. Зачастую лактобациллы вводят специально в эти сыры для борьбы с маслянокислыми бактериями, ускорения созревания и расщепления горьких пептидов. В принципе такие сыры следует рассматривать как самостоятельные виды с внесением пряности в характеристики их вкуса, как это сделано в документации на Эстонский и Волжский сыры.

При использовании лактобацилл в составе заквасок необходимо следить за тем, чтобы скорость кислотообразования во время выработки сыров не превысила допустимые пределы. Это достигается или использованием в составе закваски штаммов с низкой скоростью кислотообразования в молоке, или регулированием их доз, которые составляют в производстве мелких сыров доли процента, или использованием клеток лактобацилл в состоянии шока, блокирующего их кислотообразующую активность (разд. 11.3.6).

Специфические особенности сенсорных показателей крупных сыров обусловливаются главным образом действием термофильных молочнокислых палочек и пропионовокислых бактерий. Слабо выраженный специфический вкус и аромат в этих сырах чаще всего связан с недостаточным развитием пропионовокислых бактерий. Несмотря на большие размеры головок сыра и посолку в рассоле, обусловливающие медленное распределение соли внутри головки, уровень посолки является важнейшим фактором, определяющим интенсивность пропионовокислого брожения в крупных сырах (табл. 12.5 и табл. 3.23). В Эмментале с содержанием NaCl в водной фазе 1,24% за 134 сут образовалось в 8,4 раза больше пропионовой кислоты, чем в Грюйере с 4,25% NaCl за 195 сут, при соотношении пропионовой и уксусной кислоты 1,91 и 0,56 соответственно. В Советском сыре с содержанием соли в водной фазе 3,1% в 4-месячном возрасте содержание пропионовой кислоты составляло 29 мМ/кг, а в сыре

с 4,25% соли в водной фазе – 20 мМ/кг; в сыре с 5,2% соли оно равнялось 11,2 мМ/кг, что в 3–4 раза меньше, чем в Эмментале [1556]. Повышение содержания соли в Советском сыре с 3,1 до 4,25% снизило содержание пропионовокислых бактерий в период максимума с 90,7 до 25,3 млн. КОЕ/г. В крупных сырах швейцарской выработки количество пропионовокислых бактерий в период максимума достигает 10^8–10^9 КОЕ/г [1025]. Снижение содержания пропионовой кислоты в этих сырах сопровождается уменьшением выраженности сырного вкуса, количества и размеров глазков, а может привести и к отсутствию рисунка.

12.5. Влияние степени посолки на образование свободных жирных кислот в крупных сырах, вырабатываемых в Швейцарии [1025]

Показатели	Эмменталь	Грюйер	Аппенцеллер
Содержание влаги, г/кг	351±7,9	358±8,6	392±11,0
Содержание NaCl в сыре, г/кг	4,40±1,5	15,9±2,4	16,2±1,9
Содержание NaCl в водной фазе, %	1,24	4,25	4,0
Содержание жирных кислот, мМ/кг	128±19,5	33±12,1	74±24,9
-»- уксусной кислоты, мМ/кг	44±9,3	18±8,3	42±11,0
-»- пропионовой к-ты, мМ/кг	84±15,8	10±9,0	24±13,5
Отношение молярных концентраций пропионовой и уксусной кислот	1,91	0,56	1,23
Молочная кислота, мМ/кг	34±22,0	106±14	45±17
Возраст зрелого сыра, сут	134±13	195±8	150±9

Ингибирующее действие на развитие пропионовокислых бактерий в крупных сырах оказывает повышенная кислотность (табл. 12.6) [1554]. Повышение pH Советского сыра после прессования с 5,39 до 5,50 путем внесения в сыворотку 20% воды увеличило содержание пропионовокислых бактерий в сыре после выдержки в теплой камере с 280 до 850 млн. КОЕ/г, повысило выраженность сырного вкуса. Следует отметить, что сильный ингибирующий эффект кислотности на пропионовокислое брожение в Советском сыре наблюдается несмотря на то, что активная и титруемая кислотность в крупных сырах по мере созревания снижается гораздо быстрее, чем в мелких, за счет самого пропионовокислого брожения.

Вкус сыров первого варианта с максимальной кислотностью чаще всего был недостаточно выраженным, в некоторых из них рисунок отсутствовал, вкус и аромат сыров второго и третьего вариантов был умеренно выраженным, типичным для этого вида. К сожалению, в сырах этого опыта пропионовокислые бактерии размножались после выхода из теплой камеры, что обусловило в некоторых из них появление самокола (в таблице приведена оценка теста сыра без учета самокола, который отмечался в сырах всех вариантов).

Недостаточная выраженность вкуса и аромата российских крупных сыров из-за высокой концентрации соли и достаточно низкого pH –

главный их недостаток по сравнению с зарубежными сырами этого класса, в частности Эмменталем и Аппенцеллером. В определенной степени, высокая посолка и кислотность – вынужденные меры, так как их снижение резко увеличивает чувствительность сыров к маслянокислому брожению. В районах выработки сыра Эмменталь в Швейцарии коров не кормят силосом; в Финляндии вырабатывают большое количество Эмментальского сыра очень высокого качества из молока коров, которые получают силос, который в этой стране готовят с применением химических консервантов, что уменьшает его обсеменение спорами маслянокислых бактерий.

***12.6. Влияние активной кислотности на развитие пропионовокислых бактерий и качество Советского сыра* [1554]**

Показатели	Количество добавленной воды, %		
	0	10	20
Кислотность сыворотки в конце обработки, °Т	15,0	13,2	12,2
Активная кислотность, pH:			
после прессования	5,39	5,42	5,50
после посолки	5,28	5,30	5,40
после парилки	5,31	5,37	5,44
90 сут	5,44	5,53	5,54
120 сут	5,47	5,57	5,61
Содержание пропионовокислых бакт., млн. КОЕ/г:			
после парилки	280	600	850
75 сут	100	385	230
90 сут	240	530	470
Балловая оценка :			
вкус и запах	37,7	40	39
консистенция	22,7	23	23,7
рисунок	4,7	8,0	8,7

Заслуживают внимания работы по поиску штаммов и видов пропионовокислых бактерий, обладающих повышенной резистентностью к соли [396, 1556]. Среди пропионовокислых бактерий существует большой разброс по устойчивости к соли [401], что предопределяет возможность селекции штаммов этих бактерий, устойчивых к оптимальным концентрациям соли, используемым в производстве Советского сыра (не более 1,5% в сыре или 4% в водной фазе). Достаточно высокой устойчивостью к соли обладают некоторые штаммы *Prb. shermanii* [913].

Пропионовокислые бактерии в основном сбраживают L(+)-лактат [196, 1025]. Из микрофлоры заквасок L-лактаты образуют лактококки,

термофильный стрептококк; *Lbc. helveticus* образует DL-лактаты, *Lbc. delbrueckii subsp. lactis* и *Lbc. bulgaricus* – D(–)-лактаты. Нарушение соотношения между лактококками и лактобациллами в закваскаx для крупных сыров может оказать отрицательное действие на пропионовокислые бактерии. Из термофильных лактобацилл в закваскаx предпочтение следует отдавать *Lbc. helveticus*, которая образует больше L-лактатов, чем D-лактатов [841].

Для получения крупных сыров с типичными сенсорными показателями нужно уделять должное внимание составу бактериальных заквасок, в частности не допускать включения в их состав лактобацилл, ингибирующих рост пропионовокислых бактерий (разд. 3.3).

Выраженность сырного вкуса и аромата сыра можно повысить увеличением продолжительности созревания. Однако увеличение продолжительности созревания может улучшить качество сыров только с хорошей основой. Так, увеличение продолжительности созревания сыров, выработанных из молока, содержащего споры маслянокислых бактерий или большое количество психротрофов (больше 10^6 КОЕ/мл), будет ухудшать сенсорные показатели продукта. Выбор условий и продолжительности созревания сыра должен проводиться с учетом состава и свойств молока [396].

12.1.4. Нечистый вкус

К нечистому относят несвойственный сыру вкус, существенно ухудшающий его потребительские свойства или делающий продукт непригодным для потребления. Нечистый вкус часто сопровождается неприятным запахом.

В отечественной нормативной литературе нечистый вкус не дифференцируется, в научной и технической литературе выделяют много его разновидностей: фруктовый (грязный) [746], подгорелый (солодовый, карамельный) [746], резкий (зеленый, йогуртный) [52], броженый или дрожжевой [452, 467, 1147], фенольный [40, 464, 706, 1147], гнилостный [425, 464, 1147], едкий, перечный [52], сероводородный, неприятный, сернистый [58, 1147]. В отличие от кислого или горького вкуса, в основе этих пороков лежит образование микроорганизмами продуктов вторичного метаболизма, например, этиловых эфиров низкомолекулярных жирных кислот (фруктовый привкус), уксусного альдегида (резкий вкус), 3-метилбутанола из лейцина (подгорелый привкус), сероводорода и 3-метилмеркаптана (сероводородный, сернистый), паракрезола, метилкетона (фенольный привкус и запах) [40, 58, 1147]. Многие эти соединения, например, 3-метил-меркаптан (метанэтиол), H_2S, в определенных концентрациях являются компонентами вкуса и аромата сыров, но при превышении критического уровня их содержания в сырах появляются пороки.

Соединения, причастные к формированию порока сыров «нечистый вкус», являются продуктами протеолиза, липолиза, в меньшей степени гликолиза и дальнейшей трансформации этих продуктов. Их обра-

зование интенсифицируется при переработке молока с высоким содержанием соматических клеток за счет протеолитических и липолитических энзимов соматических клеток, однако главную роль в появления нежелательных привкусов в сырах играет микрофлора молока и сыра. При этом ответственным за появление того или иного дефекта вкуса может быть как отдельный вид или род микроорганизмов, так и совокупность различных микроорганизмов, продукты метаболизма которых вступают в реакции друг с другом с образованием соединений, ухудшающих сенсорные показатели сыров. Так, фруктовый привкус и запах в сыре вызывают психротрофные микроорганизмы *Ps. fragi*, некоторые штаммы *Ent. cloacae, Serratia rubidola*, *Kl. pneumoniae*, образующие в молоке термостабильные липазы, гидролизующие в сыре липиды с образованием масляной или капроновой кислот [1164]. Для формирования этого порока необходим этиловый спирт, продуцентами которого могут быть дрожжи, лейконостоки, *Lc. lactis* и *Lc. diacetylactis* [331, 449]. Порок прогрессирует по мере созревания, что можно объяснить возрастающими масштабами липолиза и образованием низкомолекулярных карбоновых кислот при сбраживании лактатов маслянокислыми и пропионовокислыми бактериями. Для предотвращения порока «фруктовый вкус и запах» нужно прежде всего предотвратить размножение в сыром молоке психротрофов до критического уровня (больше 10^6 КОЕ/мл) (разд. 6.7) [848]. Кроме этого, необходимо соблюдать санитарные условия производства сыра и обеспечить требуемую скорость размножения микрофлоры закваски во время выработки сыра, для того чтобы предотвратить обсеменение молока после пастеризации дрожжами и энтеробактериями. Среди энтеробактерий часто встречаются психротрофные штаммы, которые при попадании в сыр и низкой активности микрофлоры закваски могут размножиться в нем до критического уровня, превышение которого приведет к появлению фруктового вкуса и запаха и других пороков. Одной из причин появления фруктового вкуса и запаха может быть размножение в сыре лейконостоков до уровня больше $4 \cdot 10^8$ КОЕ/г, при котором они могут способствовать появлению фруктового вкуса и запаха [1308]. Интенсивное размножение лейконостоков в сыре может быть вызвано их высоким содержанием в закваске или лизисом лактококков закваски бактериофагами. Нечистый вкус в сыре может вызвать и диацетильный лактококк при высоком содержании его в исходных закваснах [331].

Целый спектр посторонних привкусов в сыре, кроме уже рассмотренного в предыдущем разделе пряного привкуса, вызывают молочнокислые палочки (броженый, резкий, фенольный, гнилостный, сероводородный и сернистый, едкий) [40, 52, 331, 449, 464, 465, 706, 1147]. При этом гетероферментативные виды вызывают пороки чаще, чем гомоферментативные [331, 465, 600]. В частности, *Lbc. brevis* вызывает дрожжевой привкус [331], *Lbc. plantarum* и *Lbc. casei* – фенольный привкус и запах [40]. Молочнокислые палочки обычно присутствуют в молоке в не-

больших количествах (десятки и сотни КОЕ/мл). Часть их клеток (даже мезофильных видов) выдерживает пастеризацию молока. Однако главным источником обсеменения сыра лактобациллами является внешняя среда во время его выработки, поскольку они размножаются в остатках молока на оборудовании, полах, в молокопроводах. Солеустойчивые виды и штаммы размножаются в рассоле, особенно с пониженной концентрацией соли, из которого при плохой замкнутости корки попадают в сыр [40, 1010]. Как правило, все солеустойчивые лактобациллы при размножении в сыре выше критического уровня вызывают пороки. В Голландии стандарт устанавливает нормативы содержания молочнокислых палочек в рассоле: не более $5 \cdot 10^3$ КОЕ/мл, в том числе не более 10^3 КОЕ/мл газообразующих [784]. Источником лактобацилл, придающим сырам гнилостный вкус и запах, может быть сычужный порошок [1013].

Количество молочнокислых палочек в сыре, как и любых других бактерий, зависит не только и даже не столько от их исходного количества, сколько от продолжительности и скорости размножения, что в свою очередь зависит от наличия в сыре источников энергии. Чем быстрее будет размножаться и сбраживать лактозу микрофлора закваски, тем меньше шансов у лактобацилл размножиться до критического уровня [1308, 1325]. Поэтому в основе дефектов сенсорных показателей сыров, обусловленных лактобациллами, лежат медленное сбраживание лактозы лактококковыми заквасками, низкое микробиологическое качество рассола в сочетании с недостаточной замкнутостью поверхности головок сыра.

Имеется и еще одна причина, способствующая развитию лактобацилл незаквасочного происхождения в сырах, связанная с термофильным стрептококком. В мелких сырах он может размножаться во время выработки и прессования, когда температура сырной массы выше минимальной температуры для его роста (18° С). Большая часть клеток термофильного стрептококка выдерживает пастеризацию, в сыром молоке они всегда есть, поэтому всегда есть и в сырах. Вторым источником являются пастеризационные установки при их работе без мойки и дезинфекции более 6 ч [258, 466]. Клетки термофильного стрептококка адгезируются на пластинах секции регенерации и быстро размножаются; их количество на пластинах может достигать 10^7 КОЕ/см^2, а в молоке при выходе из пастеризатора – до 10^6 КОЕ/мл [258].

Имеется важное отличие в сбраживании лактозы лактококками и термофильным стрептококком (см. разд. 3.2.3 и 3.2.6). Лактококки гидролизуют лактозу на глюкозу и галактозу на клеточной мембране, откуда оба сахара поступают внутрь клетки, где их одновременно сбраживают до молочной кислоты; ни глюкоза, ни галактоза, образующиеся в результате гидролиза лактозы, во внешнюю среду не поступают [1092]. У термофильного стрептококка лактоза гидролизуется на глюкозу и галактозу, глюкоза сбраживается, а галактоза выходит в среду. Только часть штаммов термофильного стрептококка сбраживает и глюкозу, и галактозу. Таким образом, штаммы термофильного стрептококка делят-

ся на сбраживающие (Гал$^+$) и несбраживающие (Гал$^-$) галактозу [441, 443]. Гал$^-$-штаммы встречаются чаще, чем Гал$^+$ [664]. Гал$^+$-штаммы в условиях выработки сыров сбраживают галактозу гетероферментативным путем. Избыток в среде лактозы сильно тормозит сбраживание галактозы даже Гал$^+$-штаммами [441]. В среде с высоким содержанием лактозы все испытанные штаммы термофильного стрептококка использовали не больше половины галактозы, содержащейся в лактозе. При ограниченном содержании лактозы только один из шести испытанных штаммов термофильного стрептококка использовал всю галактозу, получаемую из лактозы.

В мелких сырах часть образующейся в результате жизнедеятельности термофильного стрептококка галактозы сбраживается лактококками, хотя при низкой концентрации галактозы штаммы сливочного лактококка сбраживают ее медленно [1092]. Если в результате массивного обсеменения сырого молока термофильным стрептококком или неправильной эксплуатации пастеризационных установок содержание термофильного стрептококка в мелких сырах на ранних стадиях созревания превысит 10^7 КОЕ/г, то лактококки не успевают сбродить всю галактозу. Несброженная лактококками галактоза является источником энергии для лактобацилл незаквасочного происхождения.

Размножение термофильного стрептококка в сыре выше критического уровня приводит к появлению таких пороков в мелких сырах, как нечистый, неприятный вкус, щелевидный или сетчатый рисунок [462, 466, 1147]. В Нидерландах содержание термофильного стрептококка в сырах с низкими температурами II нагревания нормируется: в двухнедельных сырах с высокой гигиеной производства их число не должно превышать 10^7 КОЕ/г [784].

Если термофильный стрептококк не успеет сам сбродить всю галактозу, то она в основном сбраживается мезофильными лактобациллами, способными вызывать различные пороки сыра, классифицируемые как нечистый вкус. По голландскому стандарту в мелких сырах в 2-недельном возрасте содержание лактобацилл не должно быть выше $2 \cdot 10^6$ КОЕ/г [784].

В крупных сырах, в частности в Советском, термофильный стрептококк не успевает или не может (в случае с Гал$^-$-штаммами) сбродить всю галактозу, что в лучшем случае делают *Lbc. helveticus* (но не *Lbc. lactis* или *Lbc. bulgaricus*, которые не ферментируют галактозу) [1111], в худшем – мезофильные лактобациллы незаквасочного происхождения, способные вызвать пороки в сыре.

Таким образом, в дополнение к указанным выше мерам по предотвращению снижения качества сыров мезофильными лактобациллами и термофильным стрептококком необходимо строго соблюдать правила эксплуатации пастеризационных установок, использовать в составе заквасок для крупных сыров штаммы термофильного стрептококка и термофильных лактобацилл, сбраживающие галактозу.

Причиной нечистого, броженого вкуса в мелких сырах могут быть бактерии группы кишечных палочек, если их содержание в сыре в период максимума превысит 10^5 КОЕ/г [650, 778, 1308]. Они сбраживают лактозу с образованием молочной, уксусной, муравьиной, янтарной кислот, этилового спирта, 2,3-бутиленгликоля, водорода и CO_2. Эти продукты сами могут быть причиной нечистого вкуса и раннего вспучивания сыра, а также быть предшественниками в образовании других соединений с низким вкусовым порогом, способных вызвать дефекты в сыре. Меры предупреждения размножения БГКП в сырах до критического уровня: пастеризация сырого молока или термизация пастеризованного молока после созревания перед выработкой сыра, высокий уровень гигиены производства сыра, в частности санитарная обработка сыродельного оборудования и инвентаря после каждой выработки и, желательно, перед первой выработкой, поддержание на оптимальном уровне влажности сыра и активности микрофлоры заквасок во время выработки и на начальных стадиях созревания.

Материальной основой резкого (йогуртного, зеленого) привкуса является ацетальдегид [331]. Причинами его появления является неправильный подбор микрофлоры заквасок. В правильно подобранной закваске с диацетильным лактококком в качестве газообразователя отношение диацетила к ацетоину должно быть не ниже 4:1 [105]. Введение в состав закваски лейконостоков, ассимилирующих ацетальдегид, предотвращает появление резкого вкуса. Обычно штаммы диацетильного лактококка с низкой скоростью кислотообразования образуют больше диацетила, чем ацетоина.

Некоторые штаммы *Lc. lactis* и *Lc. diacetylactis* вызывают появление подгорелого (солодового) привкуса в сыре [746, 1147]. Для предотвращения этого порока в закваску нельзя включать штаммы, образующие 3-метил-бутанол.

Развитие на поверхности сыров дрожжей, микрококков, плесеней, коринебактерий может оказать отрицательное влияние не только на внешний вид [1613], но и на вкус и запах сыров, поскольку образуемые поверхностной микрофлорой энзимы диффундируют вглубь сыра.

Дрожжи, кроме фруктового вкуса и запаха, могут быть причиной броженого вкуса, раннего вспучивания. Основным источником дрожжей на сырзаводах являются цеха по выработке молочного сахара, которые должны быть изолированы от сырцеха. Дрожжи могут размножаться в рассоле. По голландскому стандарту в рассоле должно быть менее $5 \cdot 10^5$ мл$^{-1}$ дрожжей [784].

Споровые аэробные бактерии редко вызывают порчу сыров. Описано появление в сыре Гауда гнилостного вкуса, вызванного размножением *Bacillus polymyxa* [425], и сероводородного вкуса в сыре Грана, обусловленного развитием *Bacillus licheniformis* [58]. *B. polymyxa* – газообразующий вид, способный размножаться при низком парциальном давлении кислорода; его рост интенсифицируется при низких концентрациях соли в сыре.

У сыра Моцарелла с красно-коричневыми пятнами на поверхности был гнилостный запах, у поверхностных слоев – горький вкус. Порок вызвали псевдомонады, размножающиеся на поверхности сыра, источником псевдомонад была ледяная вода, используемая в технологических целях [146].

12.1.5. Прогорклый вкус и запах

Прогорклый (мыльный) вкус отличается от горького химической природой формирующих его веществ и наличием едкого запаха. Он обусловлен образованием свободных низкомолекулярных жирных кислот, особенно масляной кислоты. Уксусная и пропионовая кислоты данный порок не вызывают. Возможно, в формировании прогорклого вкуса и запаха участвуют продукты дальнейшего преобразования жирных кислот, например, альдегиды.

Масляная кислота всегда есть в сырах в небольших концентрациях и является компонентом их вкуса и аромата. Количество ее увеличивается по мере созревания параллельно с увеличением остроты, выраженности сырного вкуса и аромата. Однако при превышении критического уровня ее содержания появляются прогорклый вкус и запах. Низкомолекулярные жирные кислоты в твердых сырах образуются в результате липолиза, ферментации лактозы и лактатов и катаболизма аминокислот.

Катализаторами липолиза в сырах могут быть:

- липазы психротрофов, образуемые преимущественно в молоке до пастеризации и в меньшей степени при размножении некоторых психротрофных штаммов энтеробактерий в сыре;
- *липолитические системы микрофлоры заквасок и* лактобацилл [331];
- липазы поверхностной микрофлоры (плесневых грибов, коринебактерий, микрококков, дрожжей);
- липазы молока.

Липолитические системы заквасок слишком слабы, чтобы вызвать прогорклый вкус и запах, даже при условии увеличения их активности гидролизом триглицеридов молочного жира до ди- и моноглицеридов в сыром молоке липазами психротрофов или молока [1147]. Поверхностная микрофлора может вызвать излишний липолиз в сыре только при грубом нарушении технологии ухода за сырами во время созревания. Липазы молока инактивируются во время пастеризации, но они могут участвовать в липолизе в молоке до пастеризации, особенно при высоком содержании в нем соматических клеток, поскольку последние содержат липазы (разд. 7.2.12).

Термостойкие липазы психротрофов вызывают прогорклость в сырах из молока с высоким содержанием психротрофов и достаточно продолжительным созреванием или хранением сыра при температурах выше 8° С. В сырах, выработанных из молока, содержащего больше 10^7 КОЕ/мл

психротрофов, было в 3–10 раз больше свободных жирных кислот, чем в сырах, выработанных из молока с низким содержанием психротрофов; в сырах первой группы вкус и запах были прогорклыми [606].

Психротрофные штаммы энтеробактерий могут вызвать прогорклость при достаточно высоком уровне развития в сырах, что возможно при низкой активности микрофлоры закваски и низких температурах созревания сыров [1164].

Количество низкомолекулярных жирных кислот, образующихся в результате катаболизма аминокислот, слишком мало, чтобы вызвать порок «прогорклый вкус и запах».

Маслянокислое брожение лактатов – главная причина формирования прогорклого вкуса и запаха в твердых сырах. При этом маслянокислые бактерии могут сделать сыр прогорклым даже при полном отсутствии газообразования [398].

Гомогенизация и излишняя механическая обработка молока, сопровождающиеся разрушением оболочек жировых шариков и повышением содержания кислорода в молоке и сыре, интенсифицируют липолиз и повышают опасность появления прогорклого вкуса и запаха в сырах.

Меры по предотвращению формирования прогорклого вкуса и запаха состоят в следующем:

- снижение продолжительности хранения молока при низких температурах, надлежащая санитарная обработка контейнеров для холодильного хранения молока и молокопроводов на молочных фермах;
- запрет использования для выработки сыров молока с повышенным содержанием соматических клеток;
- применение для технологических целей на молочных фермах и заводах воды, соответствующей по качеству питьевой воде;
- созревание пастеризованного молока с добавлением заквасок (желательно специальных, предназначенных для созревания молока) и термизация молока после созревания перед выработкой сыра;
- применение системы мер по предупреждению маслянокислого брожения в сыре (разд. 6.5.6);
- предупреждение размножения микрофлоры на поверхности сыров.

12.1.6. Затхлый вкус и запах

Затхлый вкус и запах являются основанием для резкого снижения оценки сенсорных показателей сыра вплоть до запрещения его реализации. Этот порок вызывается накоплением в сыре 2-метокси-3-алкилпиразина – летучего азотистого соединения, образуемого *Ps. graveolens* (*Ps. taetrolens*) [746]. Соединения этого класса обнаружены в сыре Грюйер, созревающем при участии микрофлоры сырной слизи, причем они проникают даже в средние слои головки. Это косвенно подтверждают наблюдения Ведяшкина, который считает, что затхлый вкус и аромат появляется в результате развития сырной слизи под парафиновым покрытием, которое происходит при парафинировании сыров с

плохо наведенной коркой [1254]. В состав сырной слизи входят дрожжи, плесени, коринебактерии, бревибактерии (*Br. linens*), микрококки (гл. 8). Псевдомонады следует рассматривать как микробный загрязнитель слизи. Общим свойством микрофлоры слизи является высокая устойчивость к соли и аэробность. Источниками микрофлоры слизи являются: рассол, особенно с пониженной концентрацией соли; вода; воздух – вся окружающая среда на заводах, где вырабатывают сыры с поверхностной слизью. Затхлый вкус и запах могут вызвать в сыре БГКП [1707].

В отечественных крупных сырах этот порок встречается довольно редко: среди пороков Алтайского сыра затхлый вкус составил 1,3% [1528].

Меры предупреждения порока:

- жесткий контроль за качеством рассола (разд. 10.5);
- созревание сыров в пленках, непроницаемых для кислорода, применение полимерно-парафиновых покрытий с фунгицидными препаратами или обработка сыров растворами этих препаратов перед парафинированием;
- парафинирование сыров с хорошо наведенной и обсушенной коркой, соблюдение технологии парафинирования;
- выработка сыров с оптимальной влажностью;
- созревание сыров в камерах с относительной влажностью 83–84% и стабильной температурой.

Более подробно меры по ингибированию развития микрофлоры на поверхности сыров изложены в разд. 12.4.10.

12.1.7. Салистый вкус

Салистый вкус – это ощущение во рту при пережевывании сыра, сходное с теми, которые возникают при разжевывании сала. При наличии этого порока оценка за вкус и запах снижается на 10–13 баллов, что достаточно для перевода сыра в первый сорт или брак. Материальной основой порока являются высокомолекулярные жирные кислоты, получающиеся в результате липолиза. Возбудителями порока являются плесени, размножающиеся на поверхности с проникновением мицелия вглубь сыра [399]. Наиболее часто в сырах обнаруживаются *Penicillium*, *Geotrichum* и *Candida*. Меры борьбы с пороком – аналогичны тем, которые применяют для предотвращения роста поверхностной микрофлоры (разд. 12.4.10). Среди пороков Алтайского сыра салистый вкус составил 3,8% [1528].

12.2. Пороки консистенции

12.2.1. Твердая, грубая консистенция

Длительное время твердая консистенция была основным пороком консистенции российских сыров. В крупных сырах этот порок и сейчас встречается очень часто: он был обнаружен у 29,3% образцов Алтайского сыра [1528]. Оценка сыров с пороком снижается на 3–9 баллов. Ос-

новными причинами порока является низкое содержание влаги и недостаточный протеолиз (рис. 11.11) [603, 1192]. Для получения хорошей консистенции содержание влаги после прессования должно быть равным для мелких сыров 45–47%, крупных сыров 38–40%, Российского сыра 43–45%, в зрелом сыре соответственно 40–42, 36–38 и 40–42%.

Повышение влажности при прочих одинаковых условиях приводит к появлению кислого и горького вкуса и крошливой консистенции, создает более благоприятные условия для развития технически вредной и патогенной микрофлоры, замедляет образование корки, что способствует развитию поверхностной микрофлоры, увеличивает опасность деформации головок сыра. Более низкое содержание влаги не только делает консистенцию твердой и грубой, но и замедляет образование вкусовых и ароматических веществ, делая вкус менее выраженным, снижает выход сыра.

Основными технологическими факторами регулирования влажности сыров являются скорость и уровень кислотообразования во время выработки, количество соли, вносимой в зерно, температура и продолжительность II нагревания, продолжительность обработки зерна, в меньшей степени размер зерна при постановке [1193]. Оптимальный уровень каждого параметра зависит от состава и свойств молока и должен сочетаться с другими параметрами. При переработке весеннего молока, молока с повышенным содержанием соматических клеток синеретические свойства сычужного сгустка ухудшаются, и поэтому уровни других факторов следует изменять в направлении повышения скорости синерезиса. Однако менять любой фактор нужно так, чтобы не повредить другим сенсорным показателям сыра.

Ускорить или замедлить синерезис можно меняя скорость кислотообразования дозой или составом закваски. Однако, с увеличением скорости кислотообразования изменяется массообмен между сгустком и сывороткой, что влияет на вкус и другие, кроме твердости и грубости, показатели консистенции сыра. В гл. 2 и 11 показано, что pH мелких сыров перед прессованием должен быть не ниже 6,2–6,3, после прессования 5,5–5,7, а для Российского сыра 5,15–5,25. Кислотность сыворотки во время выработки мелких сыров должна возрасти на 1,5–2,0° Т и не должна превышать 16° Т, Российского сыра – на 1,5–3,5° Т (до 18° Т). Низкая скорость кислотообразования способствует получению сыра с высокой влажностью, что грозит возникновением кислого, горького вкуса и пороков сыров микробиологического происхождения. Высокая скорость кислотообразования ведет к выработке сыров с низкой влажностью, излишне твердой и грубой консистенцией, недостаточно выраженным, кислым и горьким вкусом. Кислый и горький вкус сыра при высоком уровне кислотообразования во время выработки являются следствием увеличения концентрации лактозы и кислот в сгустке в связи с изменением массообмена между сгустком и сывороткой и снижением буферности сырной массы из-за увеличения потерь Са и Р с сывороткой. Появле-

ние этих пороков при низкой активности молочнокислого процесса – результат увеличения влажности сыра, а следовательно, и увеличения массы растворенной в водной фазе лактозы. В зависимости от свойств молока, синеретической способности сгустка, устанавливают такую дозу закваски, которая позволит получить оптимальную скорость кислотообразования во время выработки сыра. Дозу закваски увеличивают при переработке незрелого молока (кислотность 16,5–17,0° Т) в весенний период, при необходимости переработать на сыр молоко с повышенным содержанием соматических клеток и недостаточной активности микрофлоры заквасок. В последнем случае увеличение дозы закваски является временной мерой. Наряду с ней, необходимо искать и устранять причины низкой активности микрофлоры закваски. Если ею является бактериофаг, то по окончании выработки меняют закваску и производят дезинфекцию сыродельного оборудования и помещений для приготовления заквасок и выработки сыра, после чего продолжают выработки сыра. Весной лучше использовать закваски Угличской биофабрики, в которых доминирует *Lc. lactis* и штаммы *Lc. diacetylactis*, придающие лучшие синеретические свойства сгустку, чем зарубежные закваски, в которых доминирует *Lc. cremoris*, а также концентраты, в состав которых входят лактококки и лактобациллы (БК-У-5А, Биоантибут).

В летний и осенний периоды, когда молоко содержит больше казеина и имеет лучшие синеретические свойства, дозу закваски следует снижать, обязательно вносить соль в зерно в допустимых количествах, что помогает вырабатывать сыры с оптимальной влажностью и хорошей консистенцией. В эти периоды закваски с доминированием *Lc. cremoris* могут дать лучшие результаты.

Важнейшим фактором регулирования влажности сыра является температура II нагревания. При переработке молока с хорошими синеретическими свойствами ее следует поддерживать на уровне 36–40° С. Такая температура облегчает получение сыров с нормальной влажностью и обеспечивает накопление нужного количества клеток микрофлоры закваски. При опасности появления горечи в сыре температуру II нагревания устанавливают на уровне 40–41° С. При низкой скорости обсушки зерна температуру II нагревания увеличивают до 42–43° С. Для обеспечения при этих температурах нужных уровней биомассы молочнокислых бактерий (около 10^9 КОЕ/г в сырах после прессования) дозу закваски повышают.

При слишком быстром нарастании кислотности сырной массы, после удаления части сыворотки оставшуюся сыворотку разбавляют водой для получения оптимальной кислотности сыра. При внесении в сыворотку 10–15% воды от количества перерабатываемого молока содержание кислот в сыре понижается на 0,17–0,34%, pH повышается на 0,17–0,21 ед. [1191, 1192, 1486]. Разбавление сыворотки водой повышает влажность сыров.

На влажность сыра влияет температура II нагревания и продолжительность обработки зерна при этой температуре. Розанов испытал три

температуры II нагревания в производстве Костромского сыра: 40, 43 и 46° С [1633]. Для получения сыра с одинаковой влажностью после прессования он снижал продолжительность обработки зерна с увеличением температуры. Сыры всех вариантов имели близкую влажность после прессования, но не в зрелом возрасте: в конце созревания влажность сыра, выработанного при температуре II нагревания 46° С была ниже на 2,1%, чем влажность сыров, выработанных при 40° С. Консистенция сыров варианта с высокой температурой II нагревания была излишне твердой, грубой, сыров варианта с температурой II нагревания 40° С – хорошей. Следовательно, при температуре II нагревания 46° С, влагоудерживающая способность сырной массы уменьшилась, что связано с изменениями белкового каркаса.

Причинами излишне твердой консистенции сыра могут быть высокая степень посолки и низкие температуры созревания, замедляющие протеолиз. Замечено, что низкая кислотность рассола (ниже 25° Т) приводит к выработке сухого, излишне твердого, склонного к жировыделению сыра Эмменталь [791].

12.2.2. Резинистая консистенция

К резинистой относят консистенцию сыра, ломтики которого размерами (30–40)×(50–60)×(2–3) мм выдерживают без разрушения многократные перегибы под углом 90–100° [1550], т. е. обладающего высокой эластичностью и упругостью. Часто резинистой консистенции сопутствует излишне плотное сырное тесто. Порок встречается достаточно часто: он, например, обнаружен в 13% образцов Алтайского сыра [1528].

Резинистая консистенция – следствие низкой скорости кислотообразования во время выработки, в результате чего в сырной массе остается много Са и Р. Высокие дозы $CaCl_2$, вносимые в молоко, ведут к получению резинистой консистенции. Порок чаще встречается в полужирных сырах и при высоком содержании белка в смеси [494]. В крупных сырах высокая интенсивность пропионовокислого брожения может привести к формированию резинистой консистенции.

Для предотвращения появления резинистой консистенции необходимо поддерживать на оптимальном уровне скорость молочнокислого брожения во время выработки сыра отбраковкой молока, содержащего ингибиторы роста микрофлоры заквасок, использованием достаточно зрелого молока (оптимальная кислотность 18° Т), надежной системой защиты заквасок от действия бактериофага, правильным выбором дозы закваски, температуры II нагревания, продолжительности обработки зерна. При медленном нарастании кислотности сырной массы во время выработки сыра можно увеличить дозу закваски, температуру II нагревания держать ниже 40° С, несколько увеличить продолжительность обработки зерна. Выбор того или иного параметра зависит от скорости синерезиса, поскольку качество сыра зависит от кислотности и влажности сыра после прессования. При нормальной скорости обсушки зерна

скорость кислотообразования следует повышать за счет увеличения дозы закваски, иначе можно получить сыр с повышенной влажностью. Не следует проводить активизацию заквасок, так как это способствует более интенсивному развитию бактериофага. В весенний период, когда активность заквасок низкая, лучше вносить в закваски мезофильные молочнокислые палочки, стимулирующие рост и кислотообразование лактококков. Однако главное – выяснить и устранить причины низкой активности микрофлоры закваски.

12.2.3. Мажущаяся консистенция

Мажущаяся консистенция характеризуется низкой твердостью и эластичностью сыра, способностью сырной массы прилипать (адгезироваться) к поверхности ротовой полости. Не следует ее смешивать с излишне нежной консистенцией, которая также характеризуется низкой твердостью и эластичностью, но не прилипаемостью сырной массы. Излишне нежная консистенция, хотя и не совсем типична для твердых сыров, но не вызывает нареканий потребителей и не рассматривается стандартом на сыры как порок. Мажущаяся консистенция оценивается со снижением оценки минимум на два балла, а иногда и больше.

Главная причина мажущейся консистенции сыра – *излишний протеолиз*, стимулируемый высокой влажностью сыра, низким уровнем посолки, большим количеством молокосвертывающих энзимов, остающихся в сыре, высокими температурами созревания. Часто консистенция сыров, которые солят в рассоле, в различных слоях головки неодинакова: в центральных слоях она может быть мажущейся, в периферийных – достаточно и даже излишне твердой. Особенно это относится к сырам с короткими сроками созревания. Неоднородность консистенции сыра в головке обусловлена неравномерным распределением соли и влаги, что ведет к изменению скорости протеолиза. Сыры без соли почти всегда имеют мажущуюся консистенцию.

В созревающих сырах после выработки параллельно идут два процесса, от совокупного действия которых зависит консистенция сыра: постепенное разрушение белкового каркаса в результате протеолиза и снижение активности воды за счет потери сыром части влаги, проникновения соли в сырную массу, гликолиза и протеолиза. В результате протеолиза консистенция сыра размягчается, а в результате снижения активности воды казеин теряет часть влаги, параказеиновые мицеллы становятся более компактными, твердость сырной массы увеличивается, ее способность деформироваться без разрушения снижается, консистенция сыра становится более ломкой, хрупкой. На первых стадиях созревания преобладает второй, далее первый процесс. Сочетание ломкой и мажущейся консистенции часто встречается в сырах [607, 773].

Появление мажущейся консистенции зависит не только от размеров, но и специфичности протеолиза. Развитие в сырах маслянокислых бактерий сопровождается появлением мажущейся консистенции (разд.

6.5.5); мажущуюся консистенцию может вызвать в сыре *Ent. faecalis subsp. liquefaciens* (разд. 3.2.8). Возможно, что появление мажущейся консистенции в результате размножения маслянокислых бактерий связано с тем, что при сбраживании лактатов повышается pH сыра, что стимулирует протеолиз. Однако может быть, само размножение маслянокислых бактерий стимулируется высокой степенью протеолиза в сыре, вызываемого энтерококками. В крупных сырах мажущаяся консистенция встречается очень редко, несмотря на низкое содержание в них соли и более глубокий и обширный протеолиз по сравнению с протеолизом в мелких сырах (табл. 11.7). Возможно, это связано с более низким содержанием влаги и более высоким – Са, но, скорее, это зависит от специфичности протеолиза в этих сырах, который сильно отличается от протеолиза в мелких сырах (разд. 11.3.2). Мажущаяся консистенция может быть следствием посолки сыра в рассоле с высокой кислотностью (больше 16° SH, или 40° T) [791].

12.2.4. Крошливая, ломкая консистенция

Крошливой, ломкой считают консистенцию сыра, ломтики которого разрушаются при перегибах под углом 90–100° [1550], т. е. недостаточно упругую консистенцию. Крошливая, ломкая консистенция – антипод *резинистой консистенции*. Она обусловлена недостаточной связностью сырного теста ввиду низкого содержания Са в сырной массе и, по-видимому, *недостаточной гидратации белка*. Основной причиной крошливой консистенции является высокая кислотность сырной массы во время обработки зерна в сырной ванне и прессования сыра, что увеличивает степень перехода Са и Р в сыворотку и задерживает больше лактозы и молочной кислоты в сыре. Увеличение содержания лактозы и молочной кислоты в сырной массе снижает pH сыров, что вызывает выход части Са и Р из параказеиновых мицелл. Вышедшие из мицелл Са и Р остаются в сыре, но они уже не принимают участия в формировании когезионных связей. Повышение кислотности сырной массы замедляет протеолиз, и по консистенции сыры с повышенной кислотностью напоминают творог.

Степень крошливости сырного теста зависит от содержания влаги в сыре, так как при недостатке влаги снижается степень гидратации, растворимость белков. Повышенное содержание соли в водной фазе сыра также увеличивает крошливость сырного теста за счет снижения количества свободной влаги и за счет снижения скорости протеолиза. Последнее служит причиной высокой твердости сырного теста, поэтому крошливая консистенция часто сочетается с твердой, грубой консистенцией. Однако такое сочетание не обязательно, потому что скорость протеолиза зависит не только от содержания влаги и активной кислотности сыра. Крошливой становится консистенция сыров также после замораживания, что связано с изменением степени гидратации параказеина.

Меры предупреждения появления крошливой консистенции те же, что применяют для предупреждения порока «кислый вкус»; они включают

технологические приемы, направленные на выработку сыра с оптимальными влажностью, степенью протеолиза, содержанием кислот и уровнем pH. Кислый вкус и крошливая консистенция – сопутствующие пороки.

12.2.5. Колющаяся консистенция (самокол)

Колющаяся консистенция характеризуется наличием в сыре трещин длиной более одного сантиметра. Под действием даже небольших внешних нагрузок на сыр размер трещин возрастает или появляются новые трещины. Порок часто сочетается с отсутствием рисунка, однако трещины могут быть в сыре с нормальным рисунком, при этом они могут пересекать нормальные глазки [1227, 1632]. К самоколу близок порок «щелевидный рисунок». При щелевидном рисунке глазки имеют форму сильно сплющенных линз длиной меньше 1 см. Розанов считает щелевидный рисунок предшественником самокола [1632]. Порок часто встречается в крупных сырах (14,7% образцов Алтайского сыра имели колющуюся консистенцию) [1528].

Одним из условий возникновения самокольной консистенции сыров является *недостаточная связность сырной массы*, характеризуемая низкой относительной деформацией сжатия, при которой образец сыра начинает разрушаться ($\Delta L/L$ кр.) [1227, 1632]. Чем ниже связность сырной массы, тем меньше давление газов, образующихся в сырах, при которых она начинает разрушаться [1227]. Связность сырной массы наибольшая в свежевыработанных сырах и снижается в процессе их созревания. На рис. 12.1 показано изменение показателя связности семи образцов Костромского сыра в зависимости от возраста [1227]. Самокола в сырах не бывает, если показатель связности сырной массы выше 0,42–0,43 на всем протяжении созревания (сыры 1 и 2). В сырах 3 и 4 в конце созревания он опустился ниже этого уровня (показанного горизонтальной линией на рис. 12.1). Самокол в этих сырах появится, если после снижения связности сырной массы до уровня меньше 0,42–0,43 в сыре будут образовываться газы. *Образование газов при низкой связности сырной массы* – второе условие возникновения самокола. В сырах 6 и 7 самокол может появиться всегда, так как показатель связности в них ниже допустимого уровня уже на начальных стадиях созревания. Велика опасность возникновения самокола в сыре 5, показатель связности которого перешагнул допустимый уровень в возрасте 15 сут. Однако в сыре 5 рисунок может быть правильным, если газообразование в нем закончится к 15-суточному возрасту.

Недостаточная связность сырной массы обусловлена низким содержанием Ca и P в сыре [1229]. В сырах с колющейся консистенцией на грамм белка приходится от 60 до $80 \cdot 10^{-5}$ гэкв Ca, в сырах с хорошей консистенцией эта величина достигает $130 \cdot 10^{-5}$ [1229, 1485]. Низкое содержание связанного Ca и P обусловлено высокой скоростью кислотообразования во время выработки и низким минимальным значением pH в сыре. Самокол имел место в мелких сырах с pH после прессования

ниже 5,17 и содержанием кислоты в обезжиренном сухом остатке сыра больше 4,5% [1430, 1484]. Минимальным уровень pH мелких сыров должен быть не после прессования, а в 3–5-суточном возрасте [1227, 1229]. Подробно о влиянии pH на консистенцию сыра рассказано в разд. 11.3.1 и 11.3.2.

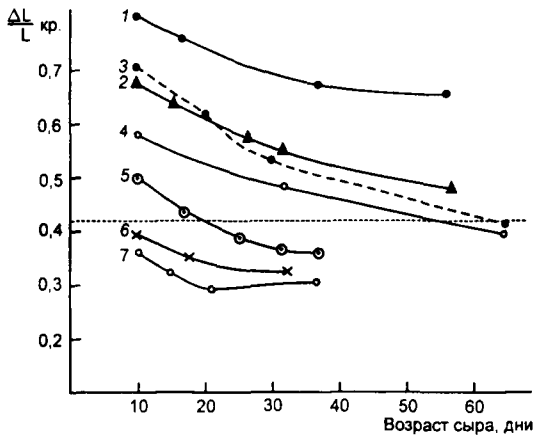


Рис. 12.1. *Изменение критической деформации в процессе созревания Голландского сыра* [1227]. *(Пояснения в тексте)*

На скорость отщепления Са от белкового комплекса влияет не только pH, так как в различных образцах молока при одном и том же pH она неодинакова. Известно, например, что количество уходящего в сыворотку Са выше в молоке, поступившем на выработку с повышенной кислотностью, чем в молоке, кислотность которого повысилась до этого же уровня во время выработки. Возможно, в первом случае сыграл роль более длительный контакт казеина с кислотой.

Высокие концентрации соли способствуют возникновению самокола [1632]. Самокол обычно сильнее выражен в поверхностных слоях головки, в которых концентрация соли выше, а $A_в$ ниже. Следует отметить, что и связность сырной массы, определяемая по величине пенетрации до разрушения образца, в поверхностных слоях ниже [1227, 1537]. Снижение связности сырной массы в процессе созревания связывают с понижением $A_в$ в результате испарения влаги, проникновения соли в сырную массу, протеолизом и гликолизом. Снижение $A_в$ уменьшает гидратацию белка, повышает жесткость, уменьшает пластичность сырной массы. Таким образом, одна из причин самокола совпадает с причиной формирования кислого вкуса и крошливой консистенции.

В мелких сырах газообразование, вызываемое бактериями закваски при ассимиляции цитратов и лактозы, обычно заканчивается в первые 10 сут созревания, когда сырная масса обладает высокой связностью [1147]. В этих условиях образуется правильный рисунок. Однако при

слишком активном кислотообразовании во время выработки сыра, самокол может появиться и на начальных стадиях созревания. Но чаще самокол возникает при образовании газа в более поздние сроки. Позднее газообразование может быть вызвано БГКП, если активность микрофлоры закваски низкая и в сырах долго сохраняется лактоза. При этом давление на сырную массу газов, образованных БГКП, выше, чем давление такого же объема газов, образованных гетероферментативными лактобактериями, поскольку выделяемый БГКП водород плохо растворим в сырной массе, а лактобактерии водород не продуцируют.

Позднее газообразование может быть вызвано гетероферментативными лактобациллами, если не все углеводы, в частности галактоза, будут сброжены в благоприятный для образования рисунка сыра период (разд. 3.2.3). Гетеротрофные лактобациллы образуют газы не только из углеводов, в частности, они образуют аммиак из аргинина [600]. Из самокольных и нормальных сыров Чеддер и Ока было выделено по 30 культур лактобацилл: среди выделенных из дефектных сыров культур 12 были гетероферментативными, из доброкачественных – только одна [600]. Гомоферментативные лактобациллы образуют газ в определенных условиях, в частности при низких температурах [464, 465]. Если обычно лактобациллы содержатся в мелких сырах в количествах до 10^7 КОЕ/г, то в самокольных сырах их число доходит до 10^9 КОЕ/г [465, 600]. На связь самокола с интенсивным развитием лактобацилл в сыре указывают многие авторы [224, 331, 390, 465, 600].

Самокол в результате жизнедеятельности лактобацилл может развиться на фоне нормального рисунка, поскольку микрофлора заквасок и лактобациллы образуют газы из различных субстратов и на разных этапах созревания сыра. При подавлении газообразующей микрофлоры заквасок, например, из-за действия бактериофагов, или при отсутствии газообразующих микроорганизмов в составе закваски цитраты будут сброжены лактобациллами на более поздней стадии созревания и нормального рисунка не будет [1099].

Размножение термофильного стрептококка в мелких сырах до достаточно высокого уровня также сопровождается газообразованием и самоколом [467]. Некоторые, но далеко не все штаммы термофильного стрептококка могут сами сбраживать галактозу с образованием газа (после того, как будут сброжены все другие углеводы). При отсутствии в сырах штаммов термофильного стрептококка, сбраживающих галактозу, она сбраживается другой посторонней микрофлорой.

Источником газов могут быть дрожжи, если их численность в сырах превысит 10^6 КОЕ/г [644]. В этом случае самокол сопровождается появлением дрожжевого привкуса.

Самокол чаще бывает в сырах, вырабатываемых без внесения в молоко нитратов, которые ингибируют газообразование маслянокислых бактерий и энтеробактерий [484].

Среди пороков крупных сыров самокол составляет 14,7%, щелевидный рисунок 7,4%, что свидетельствует о широком их распространении в сырах данного класса [1528]. В то же время крошливая консистенция составила только 1,2%, несмотря на общность главной причины этих пороков. Происходит это потому, что возможностей для образования газов на поздних этапах созревания в крупных сырах значительно больше, чем в мелких, поэтому развитие пороков сыров, обусловленных низкими концентрациями Са и Р в параказеиновых мицеллах и высокой активной кислотностью сыра, не останавливается на рубеже «крошливой консистенции», а переходит на стадию «щелевидный рисунок» и «самокольная консистенция».

В крупных сырах самокол обычно появляется после их выдержки в теплой камере. Причиной самокола в них может быть размножение пропионовокислых бактерий после перемещения сыра из теплой камеры в прохладную (10–14° С) [315, 432, 830, 1024]. Встает вопрос: почему самокол появляется не в теплой камере, где сбраживается основное количество лактатов, а в прохладной? По-видимому, это обусловлено отвердеванием триглицеридов при низких температурах, что уменьшает пластичность сырной массы. Возможно, это также связано с увеличением возраста сыра и проникновением соли в глубинные слои, что должно снизить активность воды, сольватацию белков и связность сырной массы.

Размножение пропионовокислых бактерий при низких температурах зависит от индивидуальных свойств присутствующих в сыре штаммов пропионовокислых бактерий, степени протеолиза, содержания влаги и соли [1024]. Экспериментальным мутагенезом можно получить штаммы пропионовокислых бактерий с очень низкой скоростью образования углекислого газа при температурах ниже 14° С [445].

Меры предупреждения порока:

- поддержание pH на оптимальном уровне путем использования молока с надлежащей кислотностью, выбора соответствующей дозы закваски, продолжительности обработки зерна, предохранения загрязнения закваски лактобациллами, установления оптимальной влажности сыра, раскисления сыворотки в необходимых случаях водой и т. д.;
- использование заквасок с надлежащей активностью;
- предотвращение заражения мелких сыров большим количеством клеток термофильного стрептококка, соблюдением правил эксплуатации пастеризационных установок;
- оптимальная степень посолки сыров;
- использование культур пропионовокислых бактерий, не образующих газ при температурах ниже 14° С;

Осуществление системы мер по предотвращению развития в сырах маслянокислых бактерий описано в разд. 6.5.6.

12.2.6. Мучнистая консистенция

Мучнистая консистенция характеризуется наличием большого количества мелких твердых включений в достаточно пластичной сырной массе. Природа и причины образования мучнистой консистенции не выяснены. Известно, что при замораживании и последующем оттаивании сыра его консистенция становится крошливой или мучнистой [954]. Увеличение концентрации соли в сыре Свесия увеличивает опасность формирования мучнистой консистенции [1229]. Это можно объяснить тем, что при повышении концентрации растворенных в водной фазе веществ в результате замораживания или повышения концентрации соли происходит дегидратация белковых элементов структурной сетки, размеры которых резко уменьшаются и сами структурные элементы становятся более жесткими (рис. 11.21). Большую роль в этом процессе играет и pH: чем выше активная кислотность сыра, тем больше воды будет связано кислотами. Поэтому опасность формирования мучнистой консистенции увеличивается при снижении pH сыра. В сырах Чеддер она появляется при pH 4,9–5,1 [622]. Если причиной мучнистой консистенции является низкая активность воды в сыре, то она появляется на фоне излишне твердой, грубой консистенции.

Возможно, мучнистая консистенция формируется в результате кристаллизации лактатов в связи со снижением $A_в$. Микрофлора заквасок для мелких сыров образует L(+)-лактаты, которые в сыре могут трансформироваться в рацемическую смесь L(+)- и D(–)-лактатов. Рацемическая смесь лактатов обладает низкой растворимостью и легко кристаллизируется. Трансформация лактатов идет под влиянием незаквасочной микрофлоры, в частности молочнокислых палочек и педиококков [518, 1088]. Хранение сыров при повышенных температурах ускоряет образование D(–)-лактатов. Центрами кристаллизации являются клетки лактобацилл после их гибели. Загрязнение сыра солеустойчивыми молочнокислыми палочками приводит к появлению мучнистой консистенции [464]. Мучнистость, обусловленная трансформацией L-лактатов в D-лактаты, может появляться на фоне достаточно мягкой консистенции, что имеет место на практике.

Уменьшение размеров зерна при выработке Костромского сыра вызывало появление мучнистой консистенции [1193], что может быть обусловлено излишним обезвоживанием мелких зерен.

Для предотвращения появления мучнистой консистенции необходимо вырабатывать сыры с оптимальными значениями pH, содержанием влаги по отношению к сухому обезжиренному остатку сыра и содержанию соли в водной фазе. Для ограничения развития лактобацилл в мелких сырах нужно соблюдать санитарные условия выработки сыров, обращая особое внимание на приготовление производственных заквасок, мойку и дезинфекцию технологического оборудования и бактериальное качество рассола. Однако для разработки более детальных мер борьбы с пороком нужны дополнительные исследования.

12.2.7. Свищи

В тесте сыров, особенно крупных, иногда встречаются разрывы до 0,5 см, которые называют свищами [726, 1541]. Причинами порока являются: переработка молока с повышенной кислотностью, пересушка зерна, плохая его клейкость и интенсивное газообразование. Меры предупреждения порока: не допускать переработки молока с повышенной кислотностью, строго контролировать продолжительность обработки зерна, при излишнем нарастании кислотности разбавлять сыворотку водой, проводить самопрессование сыров перед применением внешних нагрузок. Перед формованием повышать температуру смеси сыворотки и зерна на 2–3° С для повышения клейкости зерна. Не проводить добавок сырной массы в форму.

12.3. Пороки рисунка сыра

Рисунок твердых сыров – это пустоты в сырной массе, различающиеся размерами, формой и количеством. В соответствии с характером рисунка сыры подразделяют на следующие группы:

- сыры, не имеющие рисунка (Чеддер, терочные сыры);
- сыры с пустотным, неправильной формы рисунком, образуемым в результате механического захвата воздуха во время формования (группа Российского сыра и все другие сыры, формуемые насыпью);
- сыры с правильным сферическим или овальным рисунком, образуемым газообразующими лактококками и/или лейконостоками в мелких сырах и пропионовокислыми бактериями – в крупных.

Сам по себе рисунок не влияет на потребительские свойства продукта. Однако отклонения рисунка от типичного для данного вида свидетельствуют о нарушениях технологии и санитарных условий выработки сыра, т. е. тех факторов, которые обусловливают вкус, аромат, запах, консистенцию и внешний вид сыра. В связи с этим, рисунок служит косвенным показателем качества сыра, легко распознаваемым потребителями.

12.3.1. Раннее вспучивание сыров

Раннее вспучивание мелких сычужных сыров обусловлено интенсивным развитием газообразующей микрофлоры в первые 5–10 сут после выработки. Возбудителями являются бактерии группы кишечных палочек, иногда дрожжи и лейконостоки. БГКП образуют при сбраживании лактозы CO_2 и H_2. Вспучивание сыра происходит после насыщения сырной массы газами. Сырная масса растворяет достаточно большой объем углекислого газа, но очень небольшое количество водорода, поэтому вспучивание головок в основном обусловлено образованием водорода БГКП. Дрожжи и лейконостоки образуют только углекислый газ, поэтому способны вызвать раннее вспучивание только при высоком уровне развития в сырах, что бывает довольно редко. К этому следует

добавить, что некоторые представители БГКП, в частности *Aerobacter aerogenes*, образуют в два раза больше газов, чем дрожжи, лейконостоки и кишечная палочка.

БГКП оказывают отрицательное влияние на органолептические показатели сыров (вызывают появление нечистого, постороннего, затхлого вкуса и запаха), когда их содержание в сыре в период максимума превысит 10^5 КОЕ/г; вспучивание головок наблюдается в сырах при наличии в период максимума более 10^7 КОЕ/г [1036, 1669, 1707]. При уровне развития БГКП, недостаточном для вспучивания сыра, рисунок бывает рваным, броженым, сетчатым.

Вспучивание в результате развития дрожжей сопровождается появлением дрожжевого, броженого, фруктового и других привкусов. Лейконостоки также могут принять участие в формировании посторонних привкусов в сыре, но могут вызвать вспучивание сыра и без существенного ухудшения его вкуса и запаха.

Большинство клеток дрожжей и БГКП уничтожается пастеризацией, следовательно, одним из условий раннего вспучивания сыра этими микроорганизмами является послепастеризационное загрязнение ими молока или смеси для выработки сыра. Лейконостоки входят в состав заквасок.

Условием раннего вспучивания является размножение возбудителей до критического уровня и выше. Лейконостоки медленно размножаются в молоке и сыре, их количество в закваске невелико, и размножиться до критического уровня (более $4 \cdot 10^8$ КОЕ/г) они могут только при ингибировании развития лактококков закваски и, соответственно, задержке сбраживания лактозы [1331, 1753]. Это основная причина очень редких случаев раннего вспучивания сыров, вызываемого лейконостоками. Описано вспучивание шведских сыров Свесия и Герхардост, вызванное лейконостоками [496]. Внесение выделенных из вспученных сыров лейконостоков в закваску вызвало вспучивание опытных сыров. Возможно, что не только низкая активность закваски, но и индивидуальные свойства видов и штаммов лейконостоков влияют на их способность вызывать раннее вспучивание сыров.

Сыры являются неблагоприятной средой для развития дрожжей. Критического уровня в сыре они могут достичь только при массивном заражении сыра, что может быть при попадании их в молоко во время приготовления производственных заквасок.

БГКП хорошо размножаются в молоке и сыре и поэтому могут вызвать раннее вспучивание при сравнительно низком исходном заражении молока. Если при нормальной активности лактококков закваски лейконостоки могут размножиться в мелких сырах до критического уровня при внесении в смесь для выработки сыра более $3 \cdot 10^8$ КОЕ/г, то для БГКП в этих же условиях достаточно 10^2 КОЕ/г [1308, 1753]. Однако и такая степень исходного обсеменения смеси из пастеризованного молока является очень высокой. Она может быть обусловлена нарушениями режима пастеризации молока, загрязнением производственной

закваски в процессе ее приготовления БГКП, отсутствием санитарной обработки сыродельного оборудования и инвентаря в промежутки между выработками, созреванием пастеризованного молока без дополнительной тепловой обработки перед выработкой сыра.

Главной причиной раннего вспучивания сыров БГКП является снижение активности микрофлоры закваски: при низкой активности закваски БГКП могут вызвать раннее вспучивание при попадании в смесь 1–2 КОЕ/мл [1308]. Такое количество кишечных палочек может попасть в смесь даже при удовлетворительных санитарных условиях.

Чем ниже санитарный уровень производства, тем массивнее послепастеризационное загрязнение молока БГКП. Плохая мойка и дезинфекция молокопроводов может привести к образованию на поверхности труб сообществ БГКП с повышенной резистентностью к дезинфицирующим агентам. Активное размножение БГКП во время выработки приводит к значительному загрязнению поверхностей оборудования, к которым кишечные палочки могут прикрепляться. Поэтому санитарная обработка оборудования и инвентаря после каждой выработки – необходимое условие для предотвращения массивного обсеменения смеси для следующей выработки БГКП, а также бактериофагами, репродукция которых с высокой скоростью идет во время выработки сыра. Загрязнение сыра этим путем особенно опасно, так как бактерии в данном случае попадают в продукт в фазе активного роста.

Загрязнение сыра посторонней микрофлорой, в том числе БГКП, может произойти в секции регенерации пластинчатой пастеризационной установки при изношенности резиновых прокладок, наличии микротрещин в пластинах, длительной непрерывной работе установки без мойки и дезинфекции [1036].

Главной причиной снижения активности микрофлоры закваски являются бактериофаги, методы борьбы с которыми рассмотрены в гл. 4.

Низкая активность микрофлоры закваски может быть обусловлена наличием ингибиторов в молоке, причем наиболее часто встречаются антибиотики, применяемые в ветеринарии. Эти антибиотики обычно действуют на грамположительную микрофлору, не оказывая влияния на развитие грамотрицательных бактерий, к которым принадлежат БГКП. Кроме этого, среди энтеробактерий часто встречаются устойчивые к антибиотикам штаммы.

Некоторые технологические режимы могут ингибировать рост микрофлоры заквасок, не оказывая влияния на постороннюю микрофлору. К ним следует отнести температуры II нагревания 42–43° С, которые иногда применяют для ускорения синерезиса. В этом случае для компенсации ингибирующего действия высоких температур на микрофлору закваски дозу ее следует увеличить. Сильное ингибирующее действие на лактококки оказывает полная посолка в зерне, одно время применявшаяся в производстве Российского сыра. В настоящее время она запрещена.

Мерами борьбы с ранним вспучиванием сыров являются следующие:

- возможно более полная изоляция помещений для приготовления заквасок от помещений, в которых получается и перерабатывается сыворотка;
- строгое соблюдение режима пастеризации молока и правил эксплуатации пастеризационных установок;
- строгое соблюдение санитарных правил приготовления производственных заквасок и выработки сыра;
- система мер по предотвращению лизиса микрофлоры заквасок бактериофагами;
- применение для выработки сыров молока, являющегося хорошей средой для развития микрофлоры заквасок;
- использование для выработки сыров бактериальных заквасок, обладающих специфическим антагонистическим действием на БГКП [1308], нитратов (разд. 6.5.6);
- регулирование дозы лейконостоков, вносимой в молоко для выработки сыров, путем использования моновидового концентрата этих бактерий.

Раннего вспучивания практически не бывает в крупных сырах, поскольку его возбудители погибают во время II нагревания.

12.3.2. Позднее вспучивание сыров

Позднее вспучивание заключается в резком увеличении объема или даже разрыве головок твердых сыров из-за интенсивного газообразования, обычно наблюдаемого во второй половине созревания, но иногда встречающееся в сырах 10–15-суточного возраста. Обычно сыры, подверженные позднему вспучиванию, имеют отвратительный, слащавый, прогорклый вкус с резким запахом масляной кислоты, мажущуюся консистенцию и белесый цвет теста; они пригодны только для скармливания скоту. Наиболее чувствительны к маслянокислому брожению сыры с высокими и средними температурами II нагревания, однако этот порок наблюдается и в сырах с низкими температурами II нагревания.

Возбудителем порока являются маслянокислые бактерии видов *Clostridium tyrobutyricum*, реже *Clostridium butyricum*, сбраживающие лактаты с образованием в качестве основных продуктов масляной и уксусной кислот, большого количества CO_2 и H_2 (разд. 6.5).

Имеются работы, указывающие на возможность позднего вспучивания крупных сыров в результате интенсивного развития пропионовокислых бактерий [315, 559, 1024]. Пропионовокислые бактерии (разд. 3.5) сбраживают лактаты с образованием пропионовой и уксусной кислот, CO_2 и при излишнем развитии в сырах могут вызвать увеличение объема головок сыра. Однако в этом случае вкус, запах, консистенция сыров резко отличаются от показателей сыров, вспученных в результате маслянокислого брожения. Сыры, вспученные в результате пропионово-

кислого брожения, вполне могут быть переработаны в плавленые сыры, поэтому этот дефект сыров следует рассматривать как дефект внешнего вида, оставив за пороком «позднее вспучивание» только вспучивание, вызываемое маслянокислыми бактериями. Во вспученном сыре Сбринц, виновником дефекта которого считались пропионовокислые бактерии, также было более высокое, чем в нормальных сырах, содержание энтерококков и *Lbc. fermentum*, образующих в сыре углекислый газ, поэтому в данном случае возбудителем вспучивания может быть комплекс газообразующих микроорганизмов. В зависимости от интенсивности развития маслянокислых бактерий выраженность порока варьирует от разрыва головок до появления излишне развитого рисунка.

Позднее вспучивание – одна из наиболее острых проблем производства твердых сыров. Это обусловлено следующими причинами:

- невозможностью использовать сыр с пороком «позднее вспучивание» на пищевые цели, что наносит большой экономический ущерб;
- возбудители порока в виде спор, отличающихся высокой терморезистентностью, попадают в сыр с молоком, и исходная степень обсеменения ими зависит от внезаводских источников;
- маслянокислые бактерии размножаются в сырах, вырабатываемых по оптимальной технологии, и не имеют ограничений со стороны источников энергии.

Основные причины большинства пороков сыра являются следствием нарушений санитарных правил или технологии производства сыра, т. е. факторов, целиком зависящих от сыродела; позднее вспучивание обусловлено факторами, с трудом поддающимися контролю с его стороны.

Основные меры предупреждения позднего вспучивания сыров рассмотрены в разд. 6.5.6. Коротко остановимся на главных из них.

Источником спор маслянокислых бактерий в сыроделии является силос. Наиболее радикальным способом предотвращения заражения молока спорами маслянокислых бактерий является запрещение кормления коров силосом в зонах выработки сыров с высокими температурами II нагревания или выработка сыров этого класса в сезон, когда силос коровам не скармливают. Менее радикальными, но достаточно эффективными мерами, является силосование с применением химических консервантов или специальных заквасок. Обязательным является строгое соблюдение технологии силосования, скармливание силоса коровам не позднее чем за 4 ч до дойки. В силосе, скармливаемом коровам в зонах производства твердых сыров, лактатферментирующих маслянокислых бактерий должно содержаться не более 1000 спор/г. Следует отметить, что размножение маслянокислых бактерий в силосе наносит ущерб не только сыроделию, но и животноводству, так как снижает кормовую ценность и поедаемость силоса.

Хорошие результаты дает удаление из молока спор маслянокислых бактерий бактофугированием, однако способ этот довольно дорог. За

рубежом при производстве крупных сыров иногда применяют естественное отстаивание сливок, при котором из молока со сливками удаляется до 90% спор [260].

Уже в 1830 г. была публикация об использовании селитры в сыроделии для предупреждения раннего и позднего вспучивания в мелких сырах [1147]. Это эффективный метод, особенно в сочетании с бактофугированием. Ингибиторное действие на газообразующую активность возбудителей раннего и позднего вспучивания оказывают не нитраты, а нитриты – первичные продукты их восстановления. В сырах нитраты восстанавливаются под действием ксантиноксидазы молока, не денатурированной пастеризацией, и под действием БГКП. Если восстановление нитратов в нитриты идет слишком быстро или слишком медленно, то ингибирующий эффект нитратов в отношении возбудителей вспучивания может не проявиться [335].

Селитру не рекомендуется применять в производстве крупных сыров из-за ингибирующего действия ее на пропионовокислые бактерии. Мезофильные лактобациллы в крупных сырах, взаимодействуя с нитратами, могут вызвать розовую окраску сырного теста [655].

Нитраты токсичны сами по себе и являются предшественниками образования нитрозоаминов, обладающих канцерогенным действием. Однако нитраты в допустимых для использования в сыроделии дозах полностью восстанавливаются в сырах к концу созревания. Что касается нитрозоаминов, то обычно обнаруживаемые в сырах гистамин и тирамин не трансформируются в нитрозоамины, а из других аминов нитрозоамины образуются при pH от 2,0 до 4,5, т. е. в более кислой, чем в твердых сырах, среде [887].

Альтернативой селитры является лизоцим, который дороже селитры, но, в отличие от нее, не вызывает возражений со стороны органов здравоохранения. При использовании лизоцима целесообразно в состав заквасок включать штаммы термофильного стрептококка и *Lbc. helveticus*, устойчивые к используемым концентрациям лизоцима [145].

Во ВНИИМС разработаны биологические способы борьбы с поздним вспучиванием сыров, заключающиеся во включении в закваски штаммов лактобацилл, оказывающих специфическое антагонистическое действие на возбудителей вспучивания сыров. Применение таких заквасок снижает опасность вспучивания, если исходное содержание спор возбудителей в молоке не слишком велико [1308, 1672].

Ряд технологических приемов оказывает ингибирующее действие на размножение маслянокислых бактерий в сырах. К ним относятся выработка сыра с пониженной влажностью, быстрое его охлаждение сразу после выработки погружением головок в холодную воду или рассол с температурой 5–6° С, посолка до содержания соли в водной фазе не выше 6%, выдержка сыров в течение первых двух недель при 5° С [72, 482, 1308]. Большое значение имеет скорость сбраживания лактозы и снижения pH сыра. Часть из этих приемов направлена на создание не-

благоприятных условий для прорастания спор маслянокислых бактерий, которое обычно происходит во время прессования сыров и на первых этапах после прессования, когда условия в сырах (pH, активность воды и температура) благоприятны для этого [1324, 1575]. Для прорастания спор требуются более мягкие условия, чем для размножения, поэтому ингибирование прорастания спор в этот период может предотвратить маслянокислое брожение, так как далее условия для прорастания спор (особенно $A_в$) ухудшаются.

Технологические приемы предупреждения развития маслянокислых бактерий в сырах являются отклонениями от оптимальной технологии, поэтому их следует применять в периоды максимальной опасности позднего вспучивания сыров (март-апрель; октябрь-ноябрь). Иногда позднее вспучивание бывает в сырах, вырабатываемых в августе-сентябре, когда коровам скармливают много корнеплодов.

12.3.3. Отсутствие рисунка («слепой» сыр)

В сырах, формуемых из пласта, наличие правильного рисунка входит в перечень необходимых органолептических показателей. Отсутствие рисунка у мелких сыров часто сочетается с кислым и горьким вкусом, крошливой консистенцией, в крупных сырах – с невыраженным или недостаточно выраженным вкусом. Из-за отсутствия рисунка оценку мелких сыров снижают на три, крупных – на семь баллов.

В сырах, вырабатываемых на закваске, в которых газообразователи представлены диацетильным лактококком (Д-закваски), отсутствие правильного рисунка является следствием отсутствия в сыре цитратов или подавления газообразующей активности диацетильного лактококка. В молоке в вымени всегда есть цитраты, хотя содержание их подвержено сезонным изменениям [1530]. Минимальное количество цитратов отмечается в апреле, октябре и ноябре, т. е. при переходе со стойлового на пастбищный период и наоборот. В молоке с повышенной кислотностью цитраты могут быть сброжены до начала выработки сыра, что приведет к выработке сыра без рисунка или с неправильным рисунком, образованным посторонней микрофлорой. При слишком низком pH сыра правильный рисунок может не образовываться даже при наличии в сыре цитратов. Переработка молока с повышенной кислотностью является наиболее частой причиной самокола, поэтому самокольные сыры часто бывают слепыми [1229].

При наличии в закваске лейконостоков (Л- и ЛД-закваски), отсутствие цитратов в молоке не ведет к отсутствию рисунка в сыре, поскольку лейконостоки образуют CO_2 не только из цитратов, но и из лактозы. В закваске с лейконостоками подавление газообразующей активности вряд ли обусловлено действием бактериофагов, поскольку фаги лейконостоков редко встречаются на производстве и, кроме этого, лейконостоки начинают активно размножаться в сформованных сырах, когда контакт фагов с бактериальными клетками затруднен [1308]. В этом

случае причинами потери лейконостоками газообразующей активности могут быть: интенсивная посолка в зерне, низкие температуры прессования, посолки и созревания сыра. Газообразующая способность лейконостоков более чувствительна к внешним условиям, чем способность к размножению.

Отсутствие типичного рисунка в крупных сырах является следствием слабого развития пропионовокислых бактерий; оно сочетается с отсутствием или слабой выраженностью типичного для этих сыров вкуса. Рисунок таких сыров, как Грюйер, Аппенцеллер, Советский, гораздо менее развит, а вкус и аромат менее выражены, чем в сыре Эмменталь [396, 1025]. В 19,7% образцов Алтайского сыра не было рисунка, а в 18,6% он был мелким, нехарактерным для этого сыра [1528]. В Эмментале условия для роста пропионовокислых бактерий намного лучше, чем в других сырах этого класса (прежде всего за счет более низкого уровня посолки), но зато он гораздо чувствительнее к маслянокислому брожению. Для выработки Советского сыра необходимо подбирать штаммы пропионовокислых бактерий с повышенной устойчивостью к соли и включать в закваски штаммы лактобактерий, не ингибирующие рост пропионовокислых бактерий.

Из сказанного следует, что для получения сыров с типичным рисунком необходимо:

- не использовать для выработки сыров с правильным рисунком молоко с кислотностью больше 19° Т, содержащее ингибиторы заквасочной микрофлоры;
- вносить в зерно не более 300 г соли на 100 кг молока, соблюдать рекомендуемую инструкцией температуру рассола и созревания;
- при применении Д-заквасок и исчезновении рисунка использовать в дополнение к Д-закваске моновидовой концентрат лейконостоков;
- осуществлять надежную защиту заквасок от бактериофага;
- в производстве крупных сыров необходимо использовать штаммы пропионовокислых бактерий, устойчивые к применяемым концентрациям соли, максимально возможно снижать степень посолки сыров.

12.3.4. Редкий и мелкий рисунок

Редкий и мелкий рисунок вызывается теми же причинами, что и отсутствие рисунка, но выраженными в меньшей степени. Редким бывает рисунок в сырах, выработанных на Д-закваске в апреле, октябре, ноябре, когда содержание цитратов в молоке снижается по сравнению с июлем с 2 до 1,33–1,52 г/л [1530].

Мелкий рисунок может быть следствием постановки слишком мелкого зерна [1193], что косвенно подтверждает теорию образования глазков по Белоусову, который считал, что глазки в сырах образуются в местах стыка зерен.

Рост лейконостоков зависит от содержания в молоке Mn [1312, 1379], которое изменяется по сезонам: в весеннем молоке среднее со-

держание Mn равно 23,9 мкг/кг (73% от его среднего содержания в осеннем молоке и значительно ниже оптимального уровня для сбраживания цитратов лейконостоками – 50 мкг/кг) [677, 1285]. Это ведет к менее интенсивному росту лейконостоков и ухудшению рисунка в сырах, выработанных из весеннего молока на Л-закваскаx [1530].

По-видимому, весной лучше использовать ЛД-закваски, осенью – ЛД- или Л-закваски.

Причинами редкого рисунка могут быть слишком высокая кислотность молока, низкие температуры II нагревания и созревания.

В крупных сырах недостаточно развитый рисунок является следствием слабого развития пропионовокислых бактерий.

12.3.5. Сетчатый рисунок

Наличие в сыре большого количества глазков правильной и неправильной формы маленьких размеров называют «сетчатым» рисунком. Оценка такого сыра за рисунок снижается на 4–5 баллов.

Белоусов считает, что глазки образуются в местах стыка сырных зерен, первоначально заполненных сывороткой [1228]. Чем меньше будет этих пустот, тем более правильным и крупным будет рисунок сыра. При раннем применении прессования под нагрузкой перекрываются каналы для выхода сыворотки, и выделение сыворотки из сырной массы задерживается, размеры межзерновых пустот уменьшаются, что ведет к образованию большого количества мелких глазков. По рекомендации Белоусова для получения нормального рисунка сформованный сыр в салфетках должен находиться в течение одного часа под действием собственного веса (самопрессование), затем подвергаться прессованию в течение 30–60 мин при нагрузках 30:1 или 60:1. Если количество глазков в сыре без самопрессования равнялось 68/100 $см^2$ (средний диаметр 2,6 мм), то в сырах, обрабатываемых по его режиму, эти показатели равнялись соответственно 20–45 /100 $см^2$ и 3,4–5,2 мм. Оценка рисунка повысилась на 1–2 балла.

Такая интерпретация причин появления сетчатого рисунка не получила широкого признания. В отечественных руководствах по сыроделию образование сетчатого рисунка связывают с жизнедеятельностью БГКП, реже дрожжей. При этом остается неясным, почему БГКП в одном случае образуют броженый, рваный, в другом сетчатый рисунок.

За рубежом некоторые считают, что сетчатый рисунок является результатом излишнего развития термофильного стрептококка во время выработки мелких сыров, который накапливает в сыре свободную галактозу. Последняя медленно сбраживается микрофлорой закваски и длительное время сохраняется в сырах, где постепенно сбраживается гетеротрофными лактобациллами незаквасочного происхождения, которые и ответственны за образование сетчатого рисунка [442, 467, 1013, 1045, 1111]. При этом галактоза сбраживается на более поздних стадиях созревания, когда температура сырной массы снижается, что вызывает

затвердевание большинства триглицеридов и, соответственно, увеличение сопротивляемости сырной массы давлению газов. Это затрудняет диффузию газов и ведет к образованию мелкого, но частого рисунка.

Для предотвращения порока необходимо соблюдать правила эксплуатации пастеризационных установок, в результате нарушения которых сыры обсеменяются термофильным стрептококком. Работы по установлению механизма образования сетчатого рисунка должны быть продолжены.

12.3.6. Неравномерный рисунок

Глазки могут быть неравномерно распределены в сырной массе, что является следствием неравномерного охлаждения сырной массы: в той части головок, которая слишком быстро охлаждалась, рисунок может быть редким или отсутствовать совсем. Глазки могут сильно различаться по размерам и форме, что может быть следствием одновременного развития различных газообразующих микроорганизмов. При редком перевертывании головок сыра рисунок может быть также неодинаковым в различных частях головки. Меры предотвращения порока: равномерное охлаждение головок сыра, предотвращение обсеменения сыра посторонней газообразующей микрофлорой, регулярное переворачивание головок.

12.3.7. Губчатый рисунок

Губчатым называют рисунок из глазков неправильной формы, придающий сырной массе вид губки. Губчатый рисунок – разновидность броженого рисунка, является результатом интенсивного развития в сырной массе БГКП, ферментирующих лактозу дрожжей, маслянокислых бактерий. Причины возникновения порока: низкое бактериальное качество молока, несоблюдение режима пастеризации молока, нарушение санитарных правил выработки сыра, медленное развитие микрофлоры закваски из-за бактериофага, наличия в молоке ингибиторов.

При низкой активности закваски бывает, что часть сгустка плавает на поверхности сыворотки, что некоторые авторы связывают с интенсивным развитием псевдомонад во время выработки сыра [494]. Порок может быть вызван повышенными температурами сычужного свертывания и плохой дезинфекцией сыродельного оборудования.

12.4. Пороки внешнего вида

12.4.1. Деформация головок

Порок выражается в различных нарушениях геометрической формы головок сыра: искривлении, расплывании, наличии вмятин на поверхности и др. В соответствии со стандартом на твердые сыры оценка сыра с этим пороком снижается на 2–4 балла (сильно деформированные сыры к реализации не допускаются).

Основной причиной образования порока является нарушение технологических требований при выработке и созревании сыра. Так, пере-

кос крышек при прессовании сыра приводит к искривлению головок сыра, а небрежное завертывание их в салфетки или серпянки – к получению очень неровной поверхности сыра.

Деформация головок сыра может происходить при небрежной укладке их в солильный бассейн или в контейнер для посолки, при созревании сыров на неровных полках. При редких перевертываниях происходит неравномерная осадка головок – «расплывание» нижней части сырной головки. Наиболее чувствительны к механическим воздействиям сыры с высокой влажностью. Деформация головок часто происходит при бестарной (навалом) отгрузке сыров.

Особым видом деформации головок является их вспучивание вследствие развития газообразующей микрофлоры, рассмотренное в разд. 3.1 и 12.3.2.

12.4.2. Повреждения корки

Чаще всего порок образуется в результате так называемых зачисток сыра при развитии на его поверхности плесневых грибов, особенно осповидной или подкорковой плесени, цветных пятен. Если эти зачистки единичные и неглубокие, то оценка за внешний вид снижается на 2–4 балла. При многочисленных и глубоких (более 2–3 см) зачистках сыр реализации не подлежит. То же самое относится к сырам, имеющим трещины на поверхности. Трещины не только портят внешний вид сыра, но создают условия для проникновения в сырную массу и развития аэробной микрофлоры.

Образование трещин на сыре может быть вызвано быстрой обсушкой его после посолки. Чаще всего это происходит в сырохранилищах, оборудованных кондиционерами с принудительной циркуляцией воздуха, особенно если воздушный поток направляется непосредственно на сыр, а также при наличии сквозняков в помещениях для обсушки. Трещины могут быть следствием высокого уровня посолки в зерне (600–700 г соли/100 кг молока) в сочетании с продолжительной обработкой (более 10 мин) зерна после внесения соли, комкования зерна с попаданием отдельных комков на поверхность, высокой и низкой кислотности сырной массы, высокой температуры воды, в которую опускают сыр во время перепрессовки, закупорки части отверстий в перфорации [448, 931, 1517, 1596]. Трещины на поверхности сыров могут быть вызваны низкой клейкостью зерна, обусловленной излишней обсушкой и высокой кислотностью зерна, недопрессовкой сыра.

При пониженной концентрации соли в рассоле (ниже 20%) в нем размножаются некоторые виды солеустойчивых лактобацилл, образующие газ при сбраживании углеводов и дезаминировании аминокислот [456, 464, 467]. Проникая в сыр при недостаточной замкнутости поверхности головок, эти бактерии образуют газ в поверхностных слоях, что вызывает растрескивание поверхности. Их размножение вызывает появление гнилостного вкуса и мучнистой консистенции сыра. Трещины на поверхности

могут появиться при использовании рассола с кислотностью ниже 25 или выше 40° Т, загрязнении его солями тяжелых металлов [791].

Микротрещины могут появиться на поверхности сыра в результате деформации головок во время посолки. Во время посолки поверхностный слой сыра обезвоживается и теряет эластичность, в связи с чем при самой незначительной деформации поверхность сыра растрескивается. Чаще всего это происходит при укладке сыра после посолки на ребро или одной головки на другую в 3–4 ряда. Образующиеся при этом на нижних головках сыра микротрещины могут быть незаметными, но достаточными для развития в них плесневых грибов.

Образование микротрещин на сыре после посолки происходит при небрежном с ним обращении во время перемещений и укладки на стеллажи для созревания (например, при подъеме головки за один край).

Различные дефекты поверхности сыра могут быть вызваны прилипанием салфеток или перфорированных вставок к поверхности сыра во время его прессования. Прилипание салфеток к сыру чаще всего обусловлено излишней кислотностью сырной массы и связанными с этим потерями Са с сывороткой. Прилипание сырной массы к перфорированным формам или вставкам может быть вызвано плохой их мойкой, недостаточным обезжириванием.

12.4.3. Подопревшая корка

Порок «подопревшая корка» выражается в образовании размягченной, иногда слегка осклизлой поверхности одного из полотен сыра или боковой его части (на сырах в форме высокого цилиндра, созревающих на боку). Оценка за внешний вид таких сыров снижается на 3–6 баллов, а сыры с сильно подопревшей коркой вообще не подлежат реализации.

Основной причиной порока является редкое перевертывание сыров во время созревания, в результате чего поверхности, контактирующие с полкой, не успевают обсыхать (сыр может даже прилипнуть к полке), что препятствует наведению корки. То же происходит с участками поверхности сыров, соприкасающихся друг с другом или располагающихся по отношению друг к другу с зазором менее 0,5 см (нормальный зазор должен равняться 2–3 см). Наведение корки на подопревших поверхностях сильно замедляется и после перевертывания, так как при мойке сыров подопревший слой сырной массы удаляется и замкнутость поверхности нарушается.

Для предотвращения порока необходимо в первый период созревания переворачивать сыры не реже одного раза в неделю и через 10–12 дней в последующем. Размещать сыры на полках нужно с достаточным зазором.

Порок, аналогичный пороку «подопревшая корка», возникает при обильном развитии слизи на поверхности сыра. Микрофлора слизи обладает высокой протеолитической активностью (гл. 8), что и является причиной размягчения корки. Развитию слизи на поверхности сыра способствуют высокая кислотность сыра (часть микрофлоры слизи исполь-

зует молочную кислоту как источник энергии) и излишняя посолка, которая препятствует наведению корки. Благоприятные условия для развития слизи создаются при высокой относительной влажности сырных камер и редкой мойке сыров. Обильное развитие слизи на поверхности сопровождается не только ухудшением внешнего вида сыра, но и ведет к появлению нечистого, затхлого или аммиачного вкуса и запаха.

Размягчение поверхности сыра, подобное подопреванию корки, может происходить при парафинировании сыров, недостаточно обсушенных или с плохо наведенной коркой. При этом создаются условия для развития под покрытием аэробной микрофлоры, со всеми вытекающими из этого нежелательными последствиями не только для внешнего вида, но еще больше для вкуса и запаха продукта (появление затхлого, тухлого, прогорклого вкуса и запаха). То же самое происходит в сырах, созревающих в полимерной пленке, при нарушении ее герметичности или упаковке в пленку недостаточно обсушенного сыра.

12.4.4. Поврежденное парафиновое или комбинированное покрытие

Парафиновое или комбинированное покрытие повреждается при деформации головок сыра на месте вмятин, на гранях головки. Оценка внешнего вида сыров с этим покрытием снижается на 1–2 балла.

В практике сыроделия встречается особая разновидность этого порока – «осыпающийся парафин». Причинами его образования могут быть нарушения технологических инструкций, и прежде всего парафинирование сыров с плохо наведенной коркой. Под наведением корки понимается образование на поверхности сыра прочного слегка ороговевшего полупрозрачного тонкого (около 1 мм) сухого слоя.

Механизм образования корки на сыре детально не изучен и не имеет какого-либо общепризнанного теоретического обоснования. В связи с этим существует много самых различных рекомендаций по наведению корки, излагаемых в технологических инструкциях по производству сыра и учебных пособиях. В. Алексеев (неопубликованные материалы) таким образом объясняет образование корки и возникновение порока «осыпающийся парафин». Получению настоящей «классической» корки на сыре способствуют предотвращение быстрого высыхания поверхностного слоя сразу после посолки и мойка сыра в теплой воде в первые 10–15 сут. При этом еще больший эффект достигается, если после мойки сыры выдерживают в течение 3–4 с в воде с температурой 85–95° С.

Быстрая обсушка сыров после посолки и исключение мойки сыра приводят к образованию на них достаточно прочного поверхностного слоя, но это не корка: при парафинировании таких сыров поверхность под покрытием размягчается, а само покрытие, если оно не обладает повышенной прочностью и эластичностью, отстает от сыра при незначительном механическом воздействии. Это и есть порок «осыпающийся парафин».

Эти практические наблюдения позволяют предположить, что образование корки на сыре во многом связано с созданием условий для максимального набухания параказеина в поверхностном слое с последующим его высыханием. Предположительно, это происходит следующим образом. Во время посолки поваренная соль проникает в сыр только на глубину 1,5–3,0 см. При этом в водной фазе поверхностного слоя концентрация соли оказывается близкой к ее концентрации в рассоле (около 20%). Это должно привести к обезвоживанию параказеина. Также происходят структурные изменения параказеина, обусловливающие возможность формирования на его основе корки.

После посолки соль медленно диффундирует вглубь сыра, а из глубинных слоев в обратном направлении идет миграция воды. В результате этих процессов концентрация соли в водной фазе поверхностных слоев снижается и вместо обезвоживания параказеин начинает поглощать влагу. Набухание параказеина достигает максимума при 5–6% соли в водной фазе. Для достаточно высокой скорости диффузии соли вглубь сыра необходимо предотвратить быстрое обсыхание поверхностного слоя. На практике это обеспечивается выдержкой сыра в течение 3–4 сут в солильном помещении, где относительная влажность обычно поддерживается на уровне не ниже 95%. Мойка и тепловая обработка способствуют снижению концентрации соли в поверхностном слое. Положительный эффект тепловой обработки усиливается еще и тем, что она уничтожает поверхностную микрофлору и вытапливает небольшое количество жира, образующего на поверхности сыра тонкую пленку, замедляющую обсушку сыра и ингибирующую рост поверхностной слизи и плесеней.

По мере снижения концентрации соли в поверхностном слое параказеин набухает, в нем происходят структурные изменения, в результате которых после высыхания образуется прочный, «ороговевший», полупрозрачный тонкий слой, называемый коркой, четко отличающийся на разрезе от остальной сырной массы. Характерной особенностью корки является желтый или желтоватый цвет, что отличает ее от просто высохшей, без наведения корки, поверхности сыра, имеющей белый цвет.

Наведению корки способствует поддержание установленных температурно-влажностных условий созревания сыров, периодическое переворачивание головок, правильность укладки сыров на полки стеллажей и выполнение других требований по уходу за сырами во время созревания.

Хорошо наведенная корка обладает очень высокой адгезионной способностью по отношению к парафиновым покрытиям, что обеспечивает прочное удержание покрытий на сырах.

В настоящее время, в связи с разработкой новых прогрессивных способов ухода за сырами с применением различных покрытий, необходимость в наведении настоящей корки в значительной степени отпадает. Однако выпускаются сыры и по технологии, предусматривающей наведение корки.

Помимо плохо наведенной корки, повреждения парафинового покрытия могут быть обусловлены несоблюдением технологии нанесения покрытия. Пониженные температуры нанесения покрытия или парафинируемого сыра способствуют образованию излишне толстого, а следовательно, менее эластичного и устойчивого к механическому воздействию покрытия. При перемещении сыров из прохладного в более теплое помещение, в котором проводят парафинирование, обычно на поверхности сыра конденсируется влага. При парафинировании таких сыров, даже с хорошо наведенной коркой, надежного сцепления покрытия с сыром не происходит. Для улучшения сцепления сыр перед парафинированием нужно выдержать в помещении для парафинирования в течение 2–4 ч. Если перед парафинированием сыры моют, то их нужно тщательно обсушить.

Обсуждая проблемы наведения корки на сыре, следует упомянуть еще об одном дефекте – образовании излишне толстого коркового слоя. Происходит это вследствие медленного наведения корки и созревания сыров без защитного покрытия в помещениях с пониженной относительной влажностью. Из практики сыроделия известно, что образованию этого дефекта способствует низкое содержание соли в сыре.

Излишне толстый подкорковый слой может появиться при посолке сыра в рассоле с концентрацией соли больше 22% [1541]. Для предотвращения этого порока в Швейцарском сыре рекомендуется подсаливать верхнее полотно головок, что способствует поддержанию его во влажном состоянии.

12.4.5. Подкорковая плесень

Порок заключается в мелкоочаговом развитии плесени под коркой сыра. Подкорковая плесень не является особым видом плесневых грибов: обычно в качестве ее возбудителей выступают *Pen. glaucum*, *Asp. niger*, *Pen. candidum*, *Pen. album*. Подкорковая плесень обесценивает внешний вид сыра и способствует появлению в нем нечистого, плесневелого, прогорклого, салистого вкуса и запаха. Сыры с подкорковой плесенью к реализации не допускаются.

Все плесневые грибы – аэробные микроорганизмы, поэтому они размножаются под коркой (или пленкой) только при доступе воздуха, что возможно при наличии микротрещин на поверхности сыра, воздушных пустот в подкорковом слое. Главным средством предотвращения появления подкорковой плесени является хорошая отпрессовка сыра [1517]. Основным назначением прессования является получение хорошо замкнутой поверхности сыра и уплотнение поверхностного слоя. В хорошо отпрессованном сыре поверхность при проведении по ней пальцем с легким нажатием не должна разрушаться. Плохая отпрессовка сыра обусловлена низким давлением, недостаточной продолжительностью прессования, низкой температурой прессовального помещения, приводящей к быстрому охлаждению поверхности сыра и снижению ее способности к замыка-

нию, употребление старых, жестких, со следами молочного камня салфеток и серпянок, потерявших дренажные свойства. К нежелательным результатам ведет использование плохо вымытых перфорированных форм или вкладышей с отверстиями, частично или полностью закрытыми остатками белка. При частом использовании салфеток и небрежной их мойке на волокнах тканей откладывается молочный камень, что ухудшает дренажные свойства тканей и ведет к недопрессовке сыра. Салфетки следует стирать сразу после прессования с содой и жидким стеклом или после стирки с мылом прополаскивать в слабом (2–3%) растворе соляной кислоты, затем промывать холодной водой [1506].

Недостаточная замкнутость поверхности сыра может быть следствием излишней обсушки сырного зерна, что приводит к потере им клейкости. Для повышения клейкости зерна в конце его обработки рекомендуется повысить температуру содержимого ванны на 2–3° С.

Плохая отпрессовка верхнего полотна сыра может вызываться большим количеством сырной пыли. В формовочном аппарате или сыродельной ванне сырная пыль оседает на поверхности пласта. Из-за пониженного содержания влаги, низкой эластичности и клейкости пыль не дает возможности получить хорошую замкнутость поверхности сыра.

Развитие плесени в сырах происходит при наличии пустот в подкорковом слое. Одной из причин их появления в сырах, формуемых из пласта, может быть разрыхление и выравнивание сырного пласта после удаления сыворотки из формовочного аппарата. Во избежание этого выравнивание пласта следует проводить только под слоем сыворотки.

При сплошной укладке сыра в бассейне образующиеся газы не находят выхода и концентрируются в пустотах коркового слоя, что приводит к образованию на поверхности бугорков с диаметром до 3 мм, в которых позднее развивается плесень [931, 1506].

Образование пустот в сыре, особенно в верхнем поверхностном слое, может быть следствием насыщения сырной массы воздухом при перемещении ее из сыродельной ванны в формовочный аппарат. Для предупреждения этого необходимо исключить контакт перемещаемой массы с воздухом, для чего конец трубопровода, по которому передается сырное зерно с сывороткой, должен находиться возможно ближе ко дну формовочного аппарата. При этом в формовочный аппарат предварительно подается сыворотка с таким расчетом, чтобы выходной конец трубопровода был ниже уровня сыворотки. После наполнения формовочного аппарата до начала подпрессовки и удаления сыворотки, покрывающей пласт, рекомендуется проводить 5–10-минутную выдержку, способствующую выходу захваченного сырной массой воздуха. Подпрессовку пласта следует начинать под слоем сыворотки.

Одной из причин образования воздушных пустот в сырной массе может быть насыщение воздухом молока при его подаче в сыродельную ванну. На большинстве сыродельных заводов подающий молоко трубопровод располагается примерно на уровне верхнего края сыродельной

ванны, чтобы он не мешал вращению мешалок. Из-за этого поток молока падает с довольно большой высоты, особенно в начале заполнения ванны, молоко насыщается воздухом и вспенивается. При образовании сгустка пузырьки воздуха в нем фиксируются, зерно из верхних слоев становится пористым. При образовании пласта более легкое пористое зерно скапливается в верхнем слое, что в дальнейшем способствует развитию подкорковой плесени. Для того чтобы не допустить насыщения молока воздухом, можно удалить в сыродельной ванне одну из мешалок и опустить молокопровод до самого дна ванны. Если все-таки пена образовалась на поверхности молока, ее удаляют, иначе поверхностный слой сгустка будет рыхлым, губчатым [1506]. При обработке такого сгустка получается пористое, «легкое» зерно, которое может разместиться в пласте гнездами и впрессовываться в поверхностный слой сыра. Во время дальнейшего прессования на месте этих гнезд образуются воздушные пустоты, в которых размножается плесень.

Вспенивание молока способствует разрушению оболочек жировых шариков и образованию свободного жира. Этот жир всплывает на поверхность и теряется с сывороткой, что снижает выход сыра и может привести к выработке продукта, нестандартного по содержанию жира.

Развитию плесени способствуют дефекты поверхности. Редкое перевертывание сыров, вызывающее порок «подопревшая корка», развитие поверхностной слизи, сопровождающееся размягчением корки, приводят к тому, что даже при аккуратной мойке головок размягченный поверхностный слой удаляется и замкнутость корки нарушается. Это благоприятствует развитию поверхностной микрофлоры, и особенно подкорковой плесени [1517].

Поверхностный слой может нарушаться при длительном вымачивании сыра в теплой воде и использовании при мойке очень жестких щеток.

Нарушения поверхностного слоя особенно опасны для формуемых насыпью сыров. В этом случае обнажается пористая сырная масса, что создает хорошие условия для проникновения и размножения в сырах плесени. Сыры, особенно формуемые насыпью, лучше не мыть, что легко осуществимо при их созревании в пленках и под современными покрытиями.

12.4.6. Осповидная плесень

Осповидная плесень появляется в конце созревания или в зрелом сыре, когда содержание соли в поверхностных слоях понизится до 6,5–7,5%. Сначала на корке появляются белые пятна плесени *Geotrichum candidum* (*Oospora lactis* и *Oidium lactis*), позднее на их месте вырастает мицелий [941, 1444]. Плесень расщепляет белки корки, в результате под мицелием появляются углубления диаметром до 8–15 мм. От гнилостных колодцев их отличает сферическая форма дна в начале развития порока. Часто вместе с плесенью размножается гнилостная микрофлора и дрожжи.

Если плесень появилась до парафинирования, она может размножаться и под парафином, вызывая его растрескивание и отслаивание от поверхности [1444, 1505]. Если не принять мер по подавлению роста плесени, она может полностью разрушить корку и даже подкорковый слой.

В сырах типа Российского, с интенсивной посолкой в зерне и менее продолжительной посолкой в рассоле, *Mucor* и *Penicillium* в виде белых пятен может появиться даже в раннем возрасте [676].

Плесень может размножаться при снижении температуры до минус 2° С, но она чувствительна к низкому pH. Развитие поверхностной слизи повышает pH и стимулирует рост плесени, поэтому одновременно нужно бороться с плесенью и слизью. Развитие слизи стимулируется редкой мойкой сыров и высокой влажностью в сырохранилище. Осповидная плесень хорошо размножается при относительной влажности 95%, значительно медленнее при 90% и совсем медленно при относительной влажности 85% [1505]. При инфицировании поверхности сыра спорами плесени сплошной рост наблюдался при относительной влажности 88% и температуре 29–30° С через неделю, при относительной влажности 85% – через две недели, при влажности 76% рост отсутствовал; на деревянных поверхностях плесень росла только при относительной влажности выше 80% [97].

12.4.7. Цветные пятна на поверхности сыра

Появление цветных пятен на поверхности сыров обусловлено развитием микроорганизмов, образующих пигменты разного цвета или хромогены, приобретающие окраску при взаимодействии с какими-либо внешними факторами. Бактерии, например, могут образовывать бесцветный сероводород, который, при наличии в воде, используемой для технологических целей, высоких концентраций некоторых металлов, образует соли различного цвета. Плесени рода *Cladosporium* образуют черные и черно-коричневые пятна, *Penicillium* окрашивают корку в темно-коричневый цвет, проникающий в глубину головки, *Aspergillus* – в коричневый с красноватым оттенком цвет, при совместном росте аспергиллов и пенициллов корка приобретает коричневый с желтоватым оттенком цвет [1392].

К образованию цветных пятен кроме плесневых грибов причастны коринебактерии, микрококки, протей, споровые аэробы, психротрофные бактерии, актиномицеты, дрожжи и другие микроорганизмы [146, 1194, 1265, 1613]. Возбудителями пороков могут быть как отдельные виды, так и ассоциации микроорганизмов. Так, коричневое окрашивание поверхности Голландского сыра, проникающее на глубину 1–3 мм, вызывается совместным развитием микрококков и протея; черно-коричневое и красно-коричневое – коринебактерий, споровых аэробов и актиномицетов [1265]. Псевдомонады, размножаясь на поверхности сыров, образуют красно-коричневые пятна с запахом гнили [146]. Дрожжи образуют красные и желтые пятна [1613].

Таким образом, цветные пятна на поверхности сыров появляются в результате размножения многих аэробных микроорганизмов. По-видимому, можно найти специфические способы подавления роста каждого возбудителя порока, что требует длительных исследований. Однако в этом нет необходимости, так как меры борьбы с пороком должны предотвратить рост на поверхности твердых сыров всех микроорганизмов. Такой мерой является созревание сыров в строго анаэробных условиях.

При парафинировании сыров с плохо наведенной коркой на покрытиях могут появляться темные полосы [512]. Потемнение корки может вызываться загрязнением рассола тяжелыми металлами.

12.4.8. Выделение жира в крупных сырах

Выделение жира на поверхности крупных сыров – довольно распространенный порок. Свыше 20% сыров Грюйер, выработанных в Швейцарии, имели этот порок [823]. Для его предотвращения необходимо соблюдать заданные температуры и уровни относительной влажности на всех стадиях производства, тщательно оберегать сыр от прямого действия источников тепла (солнечного света, пара), не допускать сквозняков во время жаркой и сухой погоды. Порок начинает проявляться во время обсушки сыров.

12.4.9. Гнилостные колодцы

Одно время в Швейцарии наблюдался порок, заключающийся в появлении на корке крупных сыров белых пятен с гнилостным запахом [1057]. Порок проявлялся в сырах 4–6-недельного возраста после выдержки в теплой камере. Сыры с этим пороком можно направлять в реализацию только после тщательной зачистки, ухудшающей внешний вид сыра. Возбудители порока – *Ps. putida* совместно с *Kl. pneumoniae*. Оба вида устойчивы к высоким концентрациям соли и размножаются в широком диапазоне температур. Псевдомонады уничтожаются, клебсиеллы не полностью уничтожаются пастеризацией молока. Smith выделил из гнилостных участков псевдомонады, актиномицеты, дрожжи, споровые аэробы [981]. Гнилостные колодцы могут развиться в результате совместного роста плесени и гнилостной микрофлоры.

12.4.10. Предотвращение пороков, вызываемых поверхностной микрофлорой

Меры по предотвращению пороков сыра, вызываемых ростом поверхностной микрофлоры, направлены на максимально возможное ограничение загрязнения сыра возбудителями пороков и подавление или ингибирование их размножения на поверхности сыров. Основными источниками загрязнения сыра поверхностной микрофлорой являются полки, стеллажи, вода, используемая в технологических целях, воздух, рассол. Вода, емкости для холодильного хранения молока, при их нерегулярной или недоброкачественной санитарной обработке, – главные источники

психротрофных микроорганизмов. Вода для технологических нужд должна соответствовать требованиям, предъявляемым к питьевой воде. Емкости для хранения молока нужно мыть и подвергать санитарной обработке после каждого опорожнения. Хлорированию подлежат стеллажи, полки для созревания сыров. Особенно тщательно нужно проводить обработку деревянных полок, так как пористая структура дерева создает хорошие условия для выживания и размножения плесневых грибов и других представителей вредных для сыроделия микроорганизмов. Желательно деревянные полки заменить полками из других материалов, которые легче поддаются мойке и дезинфекции. Дезинфекцию полок следует проводить один раз в 10 дней [1449]. При отсутствии современных моющих и дезинфицирующих средств, рекомендуемых инструкциями по мойке и дезинфекции молочного оборудования, полки можно обрабатывать свежегашеной известью один раз в 10 дней и раз в месяц промывать 3 %-ным раствором железного купороса и 3 %-ным раствором каустической соды.

Деревянные двери и подоконники следует ежедневно протирать 1 %-ным раствором хлорной извести и промывать горячей водой. Побелку стен и потолков проводят ежемесячно с добавлением в побелочную смесь 3% медного купороса или другого фунгицидного препарата, разрешенного для использования на пищевых предприятиях [1449]. В известь для побелки можно добавлять хлорамин, содержащий 26–27% активного хлора в связанном виде, не имеющего неприятного запаха [1443]. Фунгицидное действие хлорамина возрастает почти в два раза при добавлении в смесь 10% сернокислого аммония.

Для ограничения загрязнения сыра вредной микрофлорой через рассол следует проводить раз в 3 мес санитарную обработку рассола пастеризацией, H_2O_2 (3 л 30 %-ного раствора на 1000 л), растворами хлорсодержащих дезинфицирующих веществ, содержащих 12–15% активного хлора, в дозе 0,5 л на 1000 л. Достаточно широкое распространение получает ультрафильтрация рассола [190, 1417]. Ультрафильтрация не только очищает рассол от микроорганизмов, но и снижает в нем содержание Ca, P, K, Mg соответственно на 25, 25, 16 и 11% [190].

Исследования ВНИИМС выявили высокую эффективность в борьбе с посторонней микрофлорой озона и УФ-облучения [1373]. Рекомендовано два режима обработки сырохранилищ озоном: «мягкий», с содержанием в атмосфере озона в концентрации 0,1 мл/м^3, и «жесткий», с концентрацией озона от 0,1 до 10 мл/м^3. Жесткий режим и УФ-облучение рекомендуются в камерах для созревания и хранения сыров, защищенных парафиновыми составами, в отсутствие людей. В незащищенных сырах такая обработка может привести к появлению прогорклого вкуса и запаха в поверхностных слоях. Источником озона служит генератор озона РГО-1.

При обработке УФ-лучами следует помнить, что они эффективны только при прямом воздействии на клетки, поэтому затененные участки нужно дополнительно обрабатывать хлорсодержащими растворами.

Озонирование и УФ-облучение при правильно выбранных режимах уничтожают до 80% спор плесеней, находящихся в воздушно-взвешенном состоянии. Для уничтожения микроорганизмов непосредственно на поверхности сыра рекомендуется сыры в (2,0–2,5)-недельном возрасте и после каждой мойки погружать на 3–4 с в воду с температурой 80–90° С. При этом не только уничтожается значительная часть микробных клеток, но и расплавляется часть жира в поверхностных слоях; расплавленный жир образует тонкую пленку, препятствующую контакту кислорода с поверхностью сыра, что оказывает ингибирующее действие на рост поверхностной микрофлоры.

Хорошие результаты дает мойка сыров сывороткой с кислотностью не менее 200° Т, но ее нужно проводить до начала роста плесеней, поскольку споры в момент прорастания гораздо чувствительнее к кислоте, чем мицелий [1444, 1505]. Мойка сыров кислой сывороткой (особенно с предварительной их выдержкой в сыворотке) является эффективным способом предотвращения и ликвидации цветных пятен на поверхности сыра.

Некоторые авторы рекомендуют обработку сыра известковой водой (0,1%), которая приводит к растворению белка и образованию на поверхности сыра корочки как бы из казеинового клея, препятствующей доступу кислорода [1449, 1505]. Места, пораженные осповидной плесенью, можно проглаживать горячим утюгом [1449].

Радикальной мерой предотвращения развития поверхностной микрофлоры является упаковка сыра в полупроницаемые полимерные пленки (проницаемые для CO_2 и непроницаемые для O_2) или покрытие его в раннем возрасте парафиновыми или полимерно-парафиновыми составами, содержащими фунгицидные соединения.

Наиболее широко в качестве фунгицидного средства используется дельвоцид – коммерческий препарат антибиотика натамицина, образуемого стрептомицетами. В дельвоциде содержится 50% натамицина. Препарат применяют в виде 0,1–0,6% водного раствора, в который опускают сыры перед упаковкой в пленки или нанесением покрытия, а также его вносят в пленки и покрытия для сыров в дозе 0,04–0,20%. Рост плесневых грибов на сырах, обработанных 0,4 %-ным раствором дельвоцида, появился через 3–4 недели, в контрольных сырах – через неделю. Препарат подавляет рост плесеней и дрожжей, не действует на бактерии, почти не диффундирует в сырную массу [1517, 1596, 1607, 1623]. Эффективность натамицина повышается при ежедневном переворачивании головок сыра после обработки антибиотиком в течение 10 дней [1517]. Через 4 недели после обработки дельвоцидом натамицин в сырах не был обнаружен.

В нашей стране разработана технология неполиенового антибиотика имбрицина, обладающего сильным фунгицидным действием и разрешенного для обработки сыров перед упаковкой в пленку и как компонента латексных покрытий [1634]. Обработка сыра перед упаковкой в пленку 0,5 %-ным раствором имбрицина подавляет развитие на сырах

плесеней и красной слизи. Внесение 1% антибиотика в латексное покрытие ВИМ-3 предотвратило рост плесени на поверхности сыров в течение 2-месячного созревания.

Широкое применение для борьбы с поверхностной микрофлорой нашли соли сорбиновой кислоты, используемые в виде водных суспензий для обработки поверхности сыров. Фунгицидная активность и стойкость их ниже, чем натамицина и имбрицина.

Упаковка в пленки под вакуумом в комбинации с обработкой сыров фунгицидными препаратами исключает такие операции, как наведение корки, мойку и зачистку сыров, что удешевляет производство, повышает выход и качество сыра.

Развитие поверхностной микрофлоры в большой степени зависит от влажности сырохранилищ. При опасности ее развития относительную влажность в сырохранилищах следует поддерживать на уровне 82–83% [1507]. Появление цветных пятен на поверхности сыров чаще всего происходит весной и осенью, когда влажность в сырохранилищах повышается. Влажность на поверхности сыров бывает выше, чем влажность воздуха. Это может быть обусловлено высокими концентрациями кислот и соли в сырах. Повышенная влажность размягчает поверхность сыров и стимулирует рост кислото- и солеустойчивой микрофлоры. Созревание сыров в пленках снижает или полностью исключает влияние этого фактора.

Колебания температуры в сырохранилищах приводят к конденсации влаги на поверхности сыров, что способствует развитию поверхностной микрофлоры.

Хорошие результаты дает созревание сыров в атмосфере углекислого газа [1406]. Дополнительные затраты на этот метод окупаются снижением усушки сыра и сокращением трудовых затрат по уходу за сырами во время созревания и хранения.

12.5. Пороки цвета теста

Бледный цвет теста. Порок часто наблюдается в сырах из зимнего молока, кислого молока, в пересоленых сырах. Меры по устранению порока: соблюдение технологии сыра, применение красителей.

Коричневая окраска. Коричневая окраска возникает при наличии в сыре свободной галактозы, образующейся при гидролизе лактозы термофильным стрептококком [442, 1111]. В сырах с плавлением сырной массы галактоза может вступать в реакции с продуктами протеолиза, в результате чего образуются соответствующим образом окрашенные соединения [1041]. Меры предупреждения порока: соблюдение правил эксплуатации пастеризационных установок с целью предотвращения размножения в них термофильного стрептококка, обеспечение оптимальных скоростей размножения микрофлоры заквасок, снижение температуры рассола для быстрого охлаждения сыра.

Красные пятна в мелких сырах. Возбудителем порока является *Lbc. plantarum var. rudensis* [1057]. Причины появления порока: обильное загрязнение смеси для выработки сыра клетками возбудителя из-за нарушений санитарных правил производства и низкая активность микрофлоры закваски.

Наличие белых пятен. Причиной порока является запрессовка сыворотки в сырную массу из-за неодинаковой обработки сырного зерна, применение внешних нагрузок с самого начала прессования сыра. Возникновению порока способствует комковатость закваски из-за недостаточного ее перемешивания, а также образование комков при обработке сырного зерна, вызывающее медленную обсушку зерна внутри комков. Это приводит к неоднородной влажности, концентрации соли и кислотности сырной массы в пределах головки сыра, а следовательно, к неодинаковому развитию микрофлоры и характеру биохимических процессов. Для предотвращения порока нужно удалять пену с поверхности молока перед свертыванием, вносить закваску через сетчатый фильтр, не допускать комкования зерна, применять самопрессование до приложения внешних нагрузок. Pecorari et al. вырабатывали сыр Пармезан Реджиан из молока с низкими кислотностью и сычужной свертываемостью [826]. Полученный сыр был очень мягким и влажным, из-за удержания сыворотки в нем появились белые пятна через 24 ч после выработки.

В литературе описан порок сыра под названием «*белая гниль*», характеризуемый белыми пятнами в сырном тесте с резким неприятным запахом (Dorner, 1942). Порок встречается в крупных сырах с высоким pH (5,8–6,0) [1057].

Мраморность теста сыра. Порок заключается в пестрой окраске сырного теста, встречается сравнительно редко. Порок может возникнуть при добавлении в головку остатков сырного зерна из других выработок. Некоторые авторы считают, что в появлении порока играет роль трансформация L(+)-лактата в слаборастворимый D(–)-лактат, осуществляемая лактобациллами незаквасочного происхождения и педиококками [881]. Причины развития лактобацилл в мелких сырах – низкая активность микрофлоры заквасок и загрязнение молока термофильным стрептококком.

Выдержка молока с температурой 32° С в течение 120 мин перед переработкой на сыр вызывало появление темной мраморности в сыре Чеддер, обусловленное нарушениями стойкости жировой эмульсии молока [1167].

12.6. Пороки, вызываемые насекомыми

Сырный клещ-акар (Akarus siro). Сырный клещ разрушает корку и выедает сырную массу. Причины его появления – нарушения санитарных правил производства сыра и правил ухода за сырами во время созревания. Первоначально размножается в сырной слизи, попадающей в

щели на сырных полках и стеллажах, откуда переходит в сыр. Неправильная и несвоевременная мойка, редкое перевертывание головок, позднее парафинирование, повреждения поверхности сыра (трещины, гнилостные колодцы) способствуют размножению клеща. Поражает старый сыр, что, возможно, связано со снижением содержания соли в поверхностных слоях с возрастом. При появлении клеща нужно немедленно изолировать пораженный сыр, зачистить и вымыть его, после чего головки сыра опустить в воду с температурой 85–90° С на 10–15 с. В дальнейшем пораженный сыр моют крепким рассолом через каждые 5 сут и, если через 10–15 сут клещ не появится, сыр снова моют, подвергают тепловой обработке и парафинируют [1540].

После удаления пораженного сыра из сырохранилища стены, потолок, стеллажи промывают 3 %-ным раствором медного купороса или каустической соды, стены и потолки белят свежегашеной известью с добавлением 0,1% хлорной извести. Полки снимают и моют щелочной горячей водой, дезинфицируют 0,1 %-ным раствором хлорной извести и обсушивают на солнце.

Полезно обрабатывать сырохранилища распылением дихлорэтилового эфира [448]. 1 фунта (453,6 г) этого соединения на 28,4 м^3 достаточно для полного уничтожения акара. Созревание сыра в пленке под вакуумом или в атмосфере углекислого газа предупреждает его порчу клещом. В атмосфере с 3–4% кислорода акар исчезал через 3 мес [339].

Сырные мухи. Сырные мухи вызывают пороки сыров, созревающих при участии поверхностной слизи. Меры профилактики: установление сеток в окнах и дверях, своевременная мойка и перетирание сыра, регулярная дезинфекция сырохранилищ.

12.7. Пороки рассольных и мягких сыров

Пороки рассольных и мягких сыров достаточно подробно изложены Николаевым с соавт. [1541].

ГЛАВА 13

СЫР В ПИТАНИИ ЧЕЛОВЕКА

13.1. Общие понятия

Важнейшей характеристикой продуктов питания является пищевая ценность. Под *пищевой ценностью* понимают степень удовлетворения продуктом потребностей человека в питательных веществах. Она определяется содержанием в продукте белков, жиров, углеводов, минеральных веществ, витаминов и других биологически активных веществ. Ни один продукт, кроме молока, не содержит все необходимые для человека питательные вещества в требуемых концентрациях и соотношениях, но по степени удовлетворения потребностей человека продукты резко различаются, и сыры в этом отношении занимают очень высокое положение.

Составной частью пищевой ценности продуктов питания является *биологическая ценность* – показатель качества белка, отражающий соответствие аминокислотного состава пищевого продукта потребностям организма в аминокислотах для синтеза своего белка. Биологическую ценность белка оценивают по аминокислотному скору, под которым понимают содержание в данном белке незаменимых аминокислот по отношению к их содержанию в «идеальном», или «эталонном» белке, и другим показателям, характеризующим усвояемость белков организмом.

Поставка аминокислот, необходимых для построения тканей тела, является главной функцией белков как компонентов пищи. Многие аминокислоты могут синтезироваться в организме из других аминокислот и продуктов их метаболизма, а десять аминокислот, которые называют «незаменимыми», в организме не синтезируются и обязательно должны поступать с пищей. *Белки* в рационе человека нельзя заменить другими пищевыми компонентами. Для молодых мужчин норма потребления белка равна 1,0–1,5 г на 1 кг массы, что в пересчете на «идеальный» белок составляет около 60 г в день, или 85 г «среднего» белка, причем доля животных белков должна составлять около 55% от общего содержания белков в рационе [1732]. В качестве «идеального» принимают белок куриного яйца, отличающийся низкой вариабельностью аминокислотного состава, белок коровьего или женского молока. В настоящее время большинство исследователей в качестве «идеального» (эталонного) используют гипотетический белок, рекомендованный ФАО/ВОЗ в 1973 г. и «сконструированный» на основании результатов изучения питательных потребностей человека [1732]. Состав наиболее важных незаменимых аминокислот этого белка, белков молока и сыра приведен в табл. 13.1.

Следует отметить, что потребность в аминокислотах неодинакова у различных возрастных групп населения [1732], и рано или поздно каждая группа населения будет иметь свой «идеальный» белок.

13.1. Содержание незаменимых аминокислот в белках молока и сыров в сравнении с эталонным белком (г/100 г белка) [885]

Аминокислоты	Содержание в белках, г /100 г		
	Эталонный	Молока	Сыра
Триптофан	1,0	1,4	1,4
Фенилаланин + тирозин	6,0	10,5	10,9
Лейцин	7,0	10,4	10,4
Изолейцин	4,0	6,4	5,8
Треонин	4,0	5,1	4,8
Метионин + цистин	3,5	3,6	3,2
Лизин	5,5	8,3	8,3
Валин	5,0	6,8	6,8
Всего	36,0	52,5	51,6

Липиды (жиры) необходимы в питании человека как источники энергии и поставщики веществ, используемых для построения живых тканей. Калорийность жиров в два раза выше (9 ккал/г), чем белков и углеводов. Они способствуют усвоению витаминов A, D и E и являются поставщиками этих витаминов. Липиды должны составлять 25–35% диеты по калорийности (около 102 г в суточном рационе). Рекомендуемое отношение животных и растительных жиров равно 7:3 (для пожилых 1:1) [1732].

Показателем качества липидных компонентов продуктов является *биологическая эффективность*, отражающая содержание в них полиненасыщенных (имеющих несколько не насыщенных водородом связей) жирных кислот [1511]. Полиненасыщенные жирные кислоты, подобно незаменимым аминокислотам, не синтезируются в организме и должны поступать с пищей [1732]. Полиненасыщенные жирные кислоты входят в состав клеточных мембран, обеспечивают нормальный рост и обмен веществ, эластичность сосудов, способствуют удалению из организма избытков холестерина, которые могут быть причиной возникновения и развития атеросклероза. Однако ненасыщенные жирные кислоты легко окисляются, а некоторые продукты их окисления могут быть токсичными для организма. Избыток в диете полиненасыщенных жирных кислот может привести к онкологическим заболеваниям, заболеваниям почек и печени [1732]. Поэтому в диете нужно поддерживать определенное отношение между насыщенными и ненасыщенными жирными кислотами.

Холестерин молочного жира – физиологически необходимое вещество, участвующее в синтезе некоторых гормонов, процессах кроветворения. Опасны слишком высокие его концентрации в крови. График зависимости риска сердечных заболеваний от содержания холестерина в крови имеет J-образную форму, причем резкое повышение риска наступает при увеличении концентрации холестерина в крови больше 240–250 мг/дл (некоторые считают – при больше 180 мг/дл) [725]. Под риском понимают соотношение между количеством людей с сердечно-сосудистыми

заболеваниями среди лиц с повышенным и нормальным уровнем холестерина в крови.

Содержание холестерина в крови нельзя напрямую связывать с содержанием холестерина и насыщенных жирных кислот в диете, потому что 70–80% холестерина синтезируется в организме (в печени и других тканях) из жирных, главным образом, насыщенных жирных кислот. В организме имеются механизмы, корректирующие синтез холестерина в зависимости от потребления его с пищей [725, 885, 1732]. Чем больше поступит холестерина с пищей, тем меньше его синтезируется в печени, и наоборот. Избыток жиров в питании способствует развитию сердечно-сосудистых заболеваний скорее как причина избыточного веса, который является главнейшим фактором риска. Наилучшее соотношение жирных кислот в рационах питания: 10% полиненасыщенных; 30% насыщенных и 60% мононенасыщенных [1732]. Есть и другие предложения: отношение полиненасыщенных к насыщенным жирным кислотам в диете рекомендуется повышать до 1:2 и даже 1:1 [725]. Ненасыщенными кислотами богаты растительные, насыщенными – животные жиры. Американские кардиологи считают необходимым снижение содержания животных жиров в диете до 3–5% [202].

Важным показателем пищевой ценности является *энергетическая ценность* – количество энергии (ккал, кДж), высвобождающейся из продукта для обеспечения потребностей человека. В полноценном рационе не менее 15% требуемой энергии должны поставлять белки, 30–35% – жиры, 50–60% углеводы [883, 1732]. В последние годы в развитых странах одним из главных направлений в совершенствовании структуры питания является снижение калорийности и дозы липидов в диете по калорийности до 30% и менее [725]. Это обусловлено сокращением потребности в энергии у человека в связи с гиподинамией и профилактикой сердечно-сосудистых заболеваний.

13.2. Состав сыров

Состав наиболее важных компонентов сыров приведен в табл. 13.2. Состав одного и того же вида сыра может меняться в зависимости от технологии, состава и свойств молока, законодательства, действующего в стране. Законодательно устанавливаются минимальное содержание жира в сухом веществе и максимальная влажность. Жирность твердых сыров обычно равна 45–50% в сухом веществе. Снижение содержания жира в сухом веществе увеличивает долю белков.

13.3. Белки

Белки являются необходимым и наиболее ценным компонентом любого сыра. В сырах, в зависимости от количества сухих веществ и технологии, содержится от 11 до 33% белка (табл. 13.2).

13.2. Содержание (среднее) некоторых компонентов в сырах [57, 885, 1731]

Вид сыра	Сух. вещества, %	Жир, %		Белок, %	Ca, г/кг	P, г/кг
		в сух. вещ.	абс.			
Пармезан	69,2	41	28,4	33,0	11,5	7,0
Грана	68,0	40	27,0	33,0	11,5	7,0
Эмменталь	64,4	45	29,0	27,9	10,8	8,6
Советский	62,5	50	31,2	24.7	10,5	5,8
Бийский	60,7	45	27,2	28,0	8,5	6,1
Эдам	57,8	45	26,0	25,5	7,5	4,5
Гауда	64,4	45	29,0	25,4	8,2	4,4
Голландский брусковый	59,5	45	26,8	26,0	10,4	5,4
Костромской	58,5	45	26,3	25,2	9,0	5,0
Чеддер	64,8	50	32,4	25,4	8,0	5,0
Российский	59,0	50	29,0	23.0	10,0	5,4
Тильзит	61,6	45	27,7	26,0	8.0	5,3
Ромадур	47,0	30	14,1	23,2	5,1	3,0
Рокфор (РФ)	52,0	50	26,0	20,0		
Голубой	58.0	50	29,0	22,4	7,0	4,9
Бри	46,0	50	23,0	22,4	4,0	4,0
Камамбер	49,6	45	22,3	22,0	4,0	4,0
Дорогобужский	51,5	45	23,2	22,0	7,2	4,7
Смоленский	50,0	45	22,3	24,5		
Лимбургский	49,5	40	19,7	22,4	5,7	3,0
Фета	47,0	40	18,8	17,8	6,5	4,0
Брынза (РФ)	48,0	42	20,1	17,9	5,3	3,0
Сулугуни	49,0	45	22,2	19,5		4,2
Качкавал	60,1	50	30,0	19,6		
Литовский	50,0	30	15,0	29,0	9,6	5,8
Вырусский	50,0	30	15,0	29,0	10,4	5,8
Коттедж	23,0	20	4,6	14,7	0,8	1,6
Рикотта из:						
цельного молока	28,0	46	13,0	11.5	2,0	
подснятого м-ка	25,0	32	8,0	12,0	2,8	
Адыгейский	40,0	45	18,0	16.5		
Свежий сыр	30,0	40	12,0	11,8	0,7	1,5
Любительский	40,0	50	20,0	14,5		
Останкинский	42,0	45	18,9	17,5		
Клинковый	36,0	30	10,8	19,0		
Славянский	42–43	40–45	16,8–19,6	22,0		
Творог жирный	36,8	49	18,0	14,0	1,5	2,2
Творог полужирный	29,7	30	9,0	16,7	1,6	2,2
Творог нежирный	22,8	2,6	0,6	18,0	1,2	1,9
Сыр из обезжиренного молока			0,2	16,3	0,9	1,9

В твердых сырах для формирования типичной консистенции должно быть не менее 24% белков (рис. 11.7). В большинстве сычужных сыров их больше, чем в мясе (20%). Они обладают более высокой биологической ценностью, чем растительные белки, а благодаря большому содержанию лизина повышают биологическую ценность хлеба и мучных изделий, дефицитных по лизину. Биологическая ценность смеси 76% молочного белка и 24% белков зерновых равна 105–112%, а биологическая ценность белков пшеницы – 52% [883]. Ежедневное потребление 0,5 л молока и 50 г твердого сыра покрывают потребность организма в незаменимых аминокислотах. Молочные белки особенно нужны при воспалении слизистой поверхности и язве желудка, заболеваниях печени, желчного пузыря. Они содержат большое количество фосфопротеинов, которые требуются для роста, поэтому незаменимы в питании детей и подростков [883].

В сычужные сыры переходит около 95% казеина, или 74–80% белков молока. Сывороточные белки в сычужных сырах составляют 2–3% общего содержания белка, в молоке – около 20%. Биологическая ценность сывороточных белков выше, чем казеина, поскольку казеин дефицитен по серосодержащим аминокислотам, которыми богаты сывороточные белки. Вследствие этого биологическая ценность белков сыра немного ниже, чем белков молока (они дефицитны по метионину и цистину). Если индекс незаменимых аминокислот общих белков молока принять за 100, то для белков сыров он будет находиться в интервале от 91 до 97 [1732]. В табл. 13.1 показано среднее содержание незаменимых аминокислот в белках молока и сыров в сравнении с их содержанием в эталонном белке. Из этих данных видно, что только по скору метионин + цистин (91,4%) белки сыра уступают эталонному белку, а по другим незаменимым аминокислотам они значительно превосходят его (скор 120–182%). Тем не менее даже по скору метионин + цистин (88–94%) белки сыра близки к «идеальному» белку и стоят намного выше растительных белков [1732]. Следует отметить, что для всех молочных продуктов, которые имеют лимитирующие аминокислоты, такими кислотами являются метионин + цистин [1732]. Этот недостаток легко компенсируется в рационе, поскольку хлебобулочные изделия богаты серосодержащими аминокислотами [1593].

Казеин обладает алиментарной специфичностью, обусловленной его уникальной атакуемостью энзимами пищеварительного тракта в нативном виде (сывороточные белки ими атакуются в денатурированной форме), способностью створаживаться в желудке, что повышает скорость его переваривания, и образованием при расщеплении казеина пептидов, регулирующих секрецию желудка [1740, 1741]. Кажущаяся чистая утилизация казеина равняется 56,1%, сывороточных белков – 34,4%.

В производстве кисломолочных сыров часто применяют жесткий режим пастеризации молока, например, 95° С в течение 10 мин. При таких режимах пастеризации сывороточные белки денатурируются, вступают в ассоциацию с коагулированным казеином и вовлекаются в

сгусток. Это повышает степень использования белков молока и несколько увеличивает биологическую ценность белков кисломолочных сыров. Кисломолочные сыры, особенно творог, издавна включают в диету людей с заболеваниями печени, так как их белки способствуют быстрой регенерации пораженных клеток печени. Следует, однако, учитывать, что при очень жесткой тепловой обработке часть лизина и серосодержащих аминокислот вступает в реакцию с углеводами (реакция Майара) и перестают усваиваться организмом.

Коагуляция молока молокосвертывающими энзимами не снижает биологическую ценность белков сыра. Благодаря мягкой тепловой обработке, применяемой в производстве сычужных сыров, аминокислоты и пептиды не вступают в реакцию Майара, и количество доступного лизина в сыре почти такое же, как в исходном молоке.

Во время созревания сыра часть казеина трансформируется в водорастворимые соединения, включая низкомолекуярные пептиды и свободные аминокислоты. Эти же процессы происходят на начальной стадии переваривания белков в макроорганизме. Поэтому протеолиз в сыре можно рассматривать как прелюдию переваривания белков в организме человека. Низкомолекулярные пептиды проходят через стенки кишечника и, возможно, через клеточные мембраны, таким образом, они доступны для непосредственного использования клеткой [885]. Это повышает степень переваримости белков сыра, которая выше, чем переваримость казеина. Переваримость белков многих сыров достигает почти 100% [1741].

Степень утилизации незаменимых аминокислот белков сыра равна 89,1%; она выше, чем для аминокислот белков молока (85,7%), и почти равна степени утилизации аминокислот яичных белков (89,6%). Свободные аминокислоты сыра, в частности аспарагиновая и глутаминовая, стимулируют выделение желудочного сока. Аллергии к белкам сыра не отмечено [885].

В сыры, вырабатываемые с применением ультрафильтрации для концентрирования молока, переходит не только казеин, но и сывороточные белки, в результате чего их доля в общем содержании белков в сыре повышается до 15%. Влияние внесения в молоко для выработки сыра типа Восточный (сычужный сыр с чеддеризацией и плавлением сырной массы) сывороточно-белковых концентратов, полученных методом ультрафильтрации, повысило биологическую ценность белков сыра (табл. 13.3) [1616]. Кроме этого, добавление сывороточных белков повышает выход сыра, но, к сожалению, в производстве твердых сыров усиливает возможность появления горького вкуса.

13.4. Липиды

Жиры, в отличие от казеина, не являются необходимым компонентом сыров: их вырабатывают как из цельного, так и из обезжиренного или частично обезжиренного молока. Однако сыры с низким содержа-

нием жира имеют грубую консистенцию и слабовыраженный сырный вкус и аромат. Хорошо выраженный вкус и аромат Чеддера, например, формируется при наличии не менее 40% жира в сухом веществе. Имеется тесная связь между содержанием в зрелых сырах свободных жирных кислот – продуктов липолиза, происходящего во время созревания под действием микробиальных энзимов, его вкусом и ароматом [885].

13.3. Аминокислотный скор белков сыров с добавлением (О) и без добавления (К) сывороточно-белковых концентратов, %

Аминокислоты	Тип белков				
	яйца	К	0–1[1)]	0–2[1)]	молока
Лизин	101	128	144	144	149
Треонин	120	153	166	167	120
Валин	122	122	110	115	120
Метионин+цистин	117	102	110	111	103
Изолейцин	117	105	113	126	147
Лейцин	127	135	127	123	127
Фенилаланин+тирозин	127	135	127	123	159
Триптофан	160	115	123	141	160

[1)] 0–1 – вырабатывали с КСБ-УФ (ТУ 49 939-82),
0–2 – с РСБ (ТУ 49 596-79)

В сычужных сырах жиры составляют 18–30% общей массы (табл. 13.2). Сычужные сыры с содержанием жира в сухом веществе не более 30% называют полужирными. Еще более низкое содержание жира в свежих сырах, не подвергающихся созреванию, что обусловлено высокой их влажностью. Увеличение влажности свежих сыров обеспечивает достаточно нежную их консистенцию при относительно невысоком содержании жира и незначительном расщеплении белков. Сыры из обезжиренного молока чаще всего используют для кулинарных целей и как сырье для плавления.

Жиры обусловливают высокую энергетическую ценность полножирных сыров. Калорийность некоторых сыров приведена в табл. 13.4. Коэффициент переваримости жиров в различных сырах равняется 88–94% [885].

В табл. 13.5 показан состав жирных кислот в некоторых отечественных сырах [1732]. Содержание насыщенных жирных кислот в сырах составляет 46,9–64,8% от их общего содержания, что намного выше рекомендуемых медициной нормативов в рационе питания. Однако насыщенные жирные кислоты, используемые для синтеза холестерина в организме, составляют только 36% насыщенных кислот молочного жира [439]. 13% насыщенных кислот молочного жира содержат меньше 12 атомов углерода. Эти кислоты быстро переносятся кровяным потоком в печень, где окисляются; они не осаждаются в жировых тканях и не включаются в липопротеины плазмы (Gurr, 1988) [725].

13.4. Энергетическая ценность сыров, ккал/100 г **[242, 1593, 1731]**

Грюйер	375	Эмменталь (Фин)	390	Литовский	252
Голландский		Ярославский	361	Брынза (Р)	
круглый	377	Швейцарский (Р)	396	из коровьего молока	260
брусковый	352	Бийский	363	из овечьего молока	298
Костромской	345	Сулугуни	285	Творог жирный	232
Российский	360	Дорогобужский	305	Творог полужирный	159
Гауда (Фин)	230	Рокфор (Ф)	378	Творог нежирный	88
Эдам (Фин)	320	Рокфор (Р)	340	Коттедж (Фин)	100
Советский	389	Славянский	283	Любительский	250
Клинковый	190	Адыгейский	240	Останкинский	250

Примечание: Р – Россия; Ф – Франция; Фин – Финляндия. Для сыров, страна производства которых не указана, приведены средние данные

13.5. Состав липидной фракции сыров (г/100 г) **[1732]**

Показатели	Голланд-ский бруск.	Костро мской	Росси йский	Эммен-таль-ский	Бий-ский	Литов-ский
Сумма липидов	26,80	26,30	29,00	28,0	27,20	15,0
Холестерин	0,51	1,55	1,04	–	–	–
Сумма жирных кислот	22,39	20,13	23,89	27,09	22,28	12,6
Насыщенные кислоты	15,32	12,33	15,57	18,14	14,99	7,8
Мононенасыщенные	6,38	6,84	7,64	8,22	6,68	4,4
Полиненасыщенные	0,69	0,96	0,68	0,73	0,59	0,4

Причастность сыра к возникновению атеросклероза исключается по следующим причинам:

- вклад сыров в общее содержание липидов в питании даже в странах с высоким их потреблением незначителен;
- содержание холестерина в сырах низкое; поступление его с сырами составляет не более 3–4% от общего поступления холестерина в организм [885, 1732];
- как показано выше, до 4/5 холестерина синтезируется в самом организме.

Во Франции молочный жир составляет 33% и насыщенные жирные кислоты – 50% от общего потребления жиров и жирных кислот, но смертность от сердечных болезней в этой стране менее 10%, т. е. находится на очень низком уровне [725].

В специальных опытах, охватывающих 35 семей, состоящих из 181 человека в возрасте от 3 до 48 лет, в диете которых молочные белки и липиды превышали установленные диетологами нормы, не выявлено от-

рицательного влияния диеты на здоровье участников опыта [1441]. Несмотря на это, органы здравоохранения в большинстве развитых стран считают снижение содержания жира в сырах и других молочных продуктах и за счет этого повышение отношения полиненасыщенных жирных кислот к насыщенным одной из главных задач в корректировке рационов питания, особенно при высоком уровне потребления молока и сыра в стране [202, 725].

Снижение содержания жира в сырах допустимо только при максимальном сохранении органолептических свойств, иначе снизится конкурентоспособность сыров. Как указывалось, снижение содержания жира в твердых сырах делает вкус менее выраженным, а консистенцию – излишне твердой или грубой. Для повышения качества низкожирных сыров используют несколько путей: модифицируют технологию, применяют нетрадиционные виды и штаммы бактерий, ускоряющие протеолиз, протеолитические или липолитические энзимы, добавляют в молоко имитаторы или заменители молочного жира [256].

Модификация технологии заключается в увеличении влажности сыров, гомогенизации всей или части жировой фазы, свертывании молока при 29–30° С без добавления или с добавлением меньших количеств $CaCl_2$, увеличении температуры созревания до 14° С и степени промывки сгустка водой [212, 540, 714]. Повышение температуры пастеризации с 70 до 75° С позволило выработать египетский сыр Рас приемлемого качества из молока, содержание жира в котором уменьшили с 4 до 2% [540]. Увеличение содержания белка в молоке для выработки сыра внесением ультрафильтрата обезжиренного молока повысило содержание белка и снизило содержание жира и влаги в сырах, повысило степень использования белка и выход сыра, но сделало консистенцию опытных сыров более твердой [1035].

Для ускорения протеолиза и получения пластичной консистенции при выработке сыра Гауда с 20% жира в сухом веществе в молоко вносили подвергнутые тепловому шоку лактобациллы или заключенную в липосомы Нейтразу (протеиназу, образуемую *Bacillus polymyxa*) [983]. Внесение лактобацилл делало консистенцию сыра малосвязной, внесение энзима ускоряло протеолиз и улучшало консистенцию.

Внесение в молоко для выработки Чеддера, содержащего на 1/3 меньше жира, чем полножирный сыр, клеток *Lbc. helveticus*, ослабленных низкотемпературной (82° С) и высокотемпературной (120° С) сушкой, замораживанием или сублимацией, ускорило созревание и выраженность вкуса сыра [503]. Ослабление клеток предотвращает нежелательное влияние лактобацилл на кислотообразование во время выработки сыра в сырной ванне.

Разработана технология твердого сыра Сибиряк с низкой температурой II нагревания, содержащего 25% жира в сухом веществе, в состав закваски для производства которого включены мезофильные и термофильные молочнокислые бактерии [1655].

Предложен препарат Opta Grade, обладающий физическими и функциональными свойствами, подобными молочному жиру [209]. Основой препарата является кукурузный крахмал. Внесение препарата в молоко позволяет выработать низкожирный сыр с органолептическими показателями, свойственными полножирным сырам.

Американская фирма Avonmore Cheese Inc. вырабатывает сыр Моцарелла с 1/3 жира и 1/3 калорийности по сравнению с традиционными сырами этого вида. Для того чтобы сохранить типичные для сыра органолептические показатели, низкокалорийный сыр Моцарелла вырабатывают с добавкой смеси Simplesse, состоящей из молочных и яичных белков, растительной камеди, лецитина, сахаров и пищевых кислот [318]. По-видимому, это направление получит дальнейшее развитие с образованием нового класса сыров.

Альтернативой снижения содержания жира в сыре является изменение его состава с целью увеличения отношения полиненасыщенных жирных кислот к насыщенным [1058, 1708]. В этом случае к обезжиренному или частично обезжиренному молоку добавляют жировую эмульсию (искусственные сливки), приготовленную на основе растительных жиров и стабилизаторов, например, желатина, и вырабатывают из этой смеси сыр требуемой жирности.

Соотношение полиненасыщенных жирных кислот к насыщенным можно регулировать составом рациона. В Египте разработана технология рассольного сыра с полной заменой молочного жира пальмовым маслом. Благодаря широкому диапазону содержания жира в сырах, потребитель может выбрать тот сыр, который соответствует его индивидуальным потребностям.

13.5. Лактоза и органические кислоты

Большая часть лактозы молока при выработке сыра уходит с сывороткой, оставшаяся в сыре лактоза полностью сбраживается в основном до молочной, и в меньшей степени – до уксусной и пропионовой (в крупных сырах) кислот. Небольшие количества лактозы (1–3%) остаются в свежих кисломолочных сырах. Таким образом, сыры могут включаться в рационы питания диабетиков и лиц, страдающих малабсорбцией (непереносимостью лактозы) [886].

Лактоза играет важную роль в усвоении Ca, Fe, P и других важных для организма элементов, что особенно важно в питании детей [900]. Следовательно, в диете детей кисломолочные сыры предпочтительнее твердых.

В сырах, в зависимости от вида, содержится от 0,2 (Камамбер) до 1,5% (Российский, Чеддер) молочной кислоты в виде L(+)- и D(–)-изомеров. Доля D(–) варьирует от 4–14% (свежие сыры) до 10–50% (созревшие сыры) (Puhan, 1976; Pahkala & Antila, 1976; Krusch, 1978) [885]. Содержание D(–)-изомера в пище может оказать отрицательное влияние на здоровье детей до одного года, для других возрастов ограничений по содержанию этого изомера молочной кислоты в пище нет.

13.6. Минеральные вещества

Сыры являются важнейшим источником Ca и P в питании. 100 г мягких сыров покрывают дневную потребность в Ca на 30–40%, в P – на 12–20%; 100 г твердых сыров покрывают дневную потребность в Ca полностью, а в P – на 40–50% [885]. В Германии и Франции сыры покрывают дневную потребность взрослых в Ca примерно на 20%. Следует напомнить, что Ca абсолютно необходим для нормальной работы сердечной мышцы, нервной системы; Ca и P обеспечивают прочность и твердость костей и зубов. Миллионы людей страдают от остеопороза из-за недостатка Ca в питании.

Содержание Ca и P в сырах показано в табл. 13.2. Чем выше кислотность сыворотки во время выработки, тем ниже содержание Ca и P в сыре. В связи с этим содержание Ca и P в сычужных сырах более высокое и постоянное по сравнению со свежими кисломолочными сырами. Так, например, содержание Ca в Камамбере колеблется от 2 до 7 г/кг (Guegen, 1979) [57]. При выработке одного и того же вида сыра с различным содержанием жира, содержание Ca и P будет снижаться при повышении содержания жира. Ca, P и Mg в сырах усваиваются так же хорошо, как в молоке. Сычужные сыры относятся к продуктам с наиболее благоприятным соотношением Ca и P (1,5–2,0). Они не обладают кариогенным действием, хорошо усваиваются организмом. Имеются данные, что потребление с пищей достаточного количества Ca снижает риск рака толстой кишки [900]. Особенно велики потребности в Ca у детей и подростков. Содержание Ca и P в твердых сырах примерно в 20–30 раз выше, чем, например, в овощах. Следует отметить, что в сырах типа Камамбер, в которых pH на поверхности в зрелом возрасте нейтральный или близкий к нейтральному, около 80% Ca и 55% P находится в корочке [375].

Потребность взрослого человека в Na составляет около 4 г в день; на самом деле в виде соли человек потребляет в 2–5 раз больше Na, чем ему требуется [401]. Излишнее потребление соли (точнее, Na) повышает кровяное давление и является фактором риска в возникновении и развитии атеросклероза, а также интенсифицирует выведение Ca из организма, что может привести к заболеванию остеопорозом. Однако с сырами, даже в странах с высоким уровнем их потребления, например, во Франции и Швейцарии, поступает всего 5–6% Na от общего его потребления, в Германии – 10%. Положение может измениться в районах потребления больших количеств рассольных сыров. Нормативными документами в Германии рекомендовано снижать содержание Na в сыре Эдам до 120 мг/100 г (при традиционном уровне посолки в сырах этого вида содержится не менее 600–800 мг/100 г) [1160]. Новые виды рассольных сыров в России содержат примерно в два раза меньше соли, чем традиционные.

Следует отметить, что сыры с низким содержанием соли многим кажутся водянистыми, невыраженными по вкусу [401]. В Англии потре-

бители считают приемлемыми по вкусу и консистенции сыры Чеддер с содержанием соли не ниже 1,12% [864], россияне любят более соленые сыры. Лучшую оценку по органолептике сыры Тильзит и Гауда получили при сокращении продолжительности посолки на 25–50% [485].

Для снижения содержания Na в последнее время уменьшают время выдержки сыров в рассоле и применяют рассол, содержащий смесь поваренной соли и KCl в отношении 2:1 или 1:1 [328, 485, 863, 885, 1500]. Калий в определенной степени защищает организм от избытка Na. Сыры, выработанные этим методом, содержали на 75% меньше Na, чем традиционные, и были приемлемы для потребителя по органолептике. Замена части натрия калием, играющим важную роль в проводимости сердечных тканей, оказывает благоприятное действие на сердечно-сосудистую деятельность. Натрий – антагонист калия и в диете важно не только абсолютное содержание этих элементов, но и соотношение Na : K; потребление сыров, обогащенных K, позволяет сместить это отношение в благоприятную для здоровья потребителя сторону. В Армении разработана технология быстросозревающего сыра с чеддеризацией сырной массы Здоровье, в котором NaCl заменен 1,2–1,5% KCl [1204]. К сожалению, подробного описания его органолептических показателей в доступной литературе не найдено. В то же время есть данные, что сыры с частичной заменой натрия калием (содержащие более 1% KCl) сильно отличаются по вкусу от традиционных сыров, часто бывают очень горькими не за счет образования горьких пептидов [401].

Имеются также данные, что гипертония скорее обусловлена дефицитом Ca в диете, чем излишком Na: исследования показали, что гипертоники потребляли на 25% меньше Ca из-за недостатка молока и молочных продуктов в диете (McCarron et al., 1982) [885].

Содержание в сырах некоторых микроэлементов (мг/кг) колеблется в пределах: Fe – 0,3–12; Cu – 0,2–3,6; Mn – 0,3–5,3; Mo – 0,05–0,5; Zn – 2,7–120; F – 0,1–3,9; I – 0,05–1,0; Co – 0,004–0,038 [885]. Следует отметить, что существует дефицит некоторых микроэлементов в рационах питания, в частности железа, недостаток которого ощущается и в молоке. Сыр Коттедж из обогащенного железом молока содержит 58% железа исходного молока, и 100 г этого сыра удовлетворяют потребность взрослых в железе на одну треть [885].

13.7. Витамины

Витамины, как и белки, являются незаменимыми веществами в питании. Средняя суточная потребность в витаминах составляет: C – 70 мг; B_1 – 1,7 мг; B_2 – 2 мг; B_6 – 2 мг; PP –19 мг; B_9 – 200 мг; B_{12} – 3 мкг; биотина (H) – 150 мкг; пантотеновой кислоты 5–10 мг; холина 250–600 мг; A – 1 мг; D – 2,5–10 мкг; E – 10 мг [1630]. В экстремальных физических и нервно-эмоциональных условиях потребность в витаминах возрастает.

Степень перехода жирорастворимых витаминов молока в сыр зависит от жирности сыра. В полножирные сыры переходит из молока 80–85%

витамина А, 10–20% тиамина (B_1), ниацина (PP), фолацина (B_9) и аскорбиновой кислоты (С), 20–30% рибофлавина (B_2) и биотина (Н), 25–45% пиридоксина (B_6) и пантотеновой кислоты (B_3) и 30–60% кобаламина (B_{12}) (Reif, 1976) [885]. Значительная часть водорастворимых витаминов молока остается в сыворотке. Однако молоко содержит большое количество витаминов группы В, и сыры являются важным источником этих витаминов, особенно кобаламина (B_{12}) (табл. 13.6). Довольно высоко в полножирных сырах содержание витамина А, играющего важную роль в профилактике ишемической и онкологических болезней пожилых людей [403, 1616]. В Англии около 20% витамина А поступает в организм с молоком и молочными продуктами [403].

***13.6. Среднее содержание витаминов в сырах* [885, 1281, 1731]**

Названия сыров	Содержание витаминов, мг/кг									
	A	B_3	B_1	B_2	B_6	B_{12}	E	PP	B_9	H
Эмменталь	3,3		0,5	3,5	0,9	0,02	3,0	1,0	0,2	
Чеддер	3,6		0,4	4,7	0,7	0,01	1,0	1,0	0,15	
Эдам	2,5		0,5	3,5	0,6	0,02	1,0			
Голубой	3,6		0,5	2,9	1,5	0,02	6,0	1,0	0,4	0,04
Камамбер	3,0		0,4	5,8	2,0	0,013	3,0	12,0	0,62	0,06
Коттедж	0,4		0,3	2,9	0,25	0,02	2,4	1,0	0,3	
Свежий	0–1		0,3	2,8		0,02		1,0		
Голландский	2,1	3,0	0,3	3,8	1,1	0,011	3,1	2,0	0,11	0,02
Костромской	2,3		0,3	3,6	1,3	0,014	3,4	2,0	0,19	
Российский	2,6		0,4	3,0	1,0	0,015	3,0	1,5	0,23	0,009
Советский	2,7	4,6	0,5	4,6	1,0	0,022	6,0	1,0	0,26	
Швейцарский (РФ)	2,7	3,0	0,5	5,0	1,0	0,016	3,6	1,0	0,1	0,025
Бийский	2,0		0,4	3,0	1,0		5,0	0,6	0,18	
Любительскй	1,0			3,0						
Адыгейский	0,8			2,7						
Славянский	1,7		0,53	5,6	0,93		4,8	1,54		

Содержание витаминов в сырах зависит от микрофлоры, применяемой для их выработки. Сыры, созревающие с участием поверхностной плесени, в частности Камамбер, содержат больше некоторых витаминов группы В. Состав витаминов изменяется в течение созревания: обычно их концентрация возрастает к концу созревания в результате синтеза микрофлорой. В сырах синтезируются никотиновая, фолиевая и пантотеновая кислоты, биотин. В твердых сырах с высокой и средней температурой II нагревания пропионовокислые бактерии синтезируют витамин B_{12}, что увеличивает в них содержание этого витамина по сравнению с сырами с низкой температурой II нагревания в 1,5–2 раза

(табл. 13.6). Содержание витамина B_{12} в твердых сырах с низкой температурой II нагревания можно удвоить, обогащая молоко для его выработки пропионовокислыми бактериями [885]. В зависимости от состава микрофлоры содержание некоторых витаминов, например, фолиевой кислоты, в процессе созревания может или увеличиваться, или снижаться (Dillon, 1984) [1616].

Значительное количество аскорбиновой кислоты разрушается во время производства сыра. В зрелых твердых и полутвердых сырах российской выработки ее содержится от 28–30 (Голландский, Костромской) до 10 (Бийский) мг/кг, что значительно меньше, чем в овощах и фруктах [1732]. Во время производства французских сыров Грюйер и Рокфор витамин С может полностью разрушиться (Adrian & Poiffit, 1979) [1593].

При соблюдении норм потребления молоко и сыр удовлетворяют потребности (в %): в витамине А на 15, в тиамине – на 10, в рибофлавине – на 40, в ниацине – на 30, в витамине B_{12} – на 25 [1593].

13.8. Диетические (функциональные) сыры

В последние годы появились сыры, которые можно объединить в новый класс «Сыры диетические (функциональные)». К функциональным продуктам относят те, которые при систематическом употреблении стимулируют жизнедеятельность организма в целом или оказывают определенное регулирующее действие на определенные системы, органы или функции организма. Наиболее крупной группой функциональных продуктов являются продукты, содержащие достаточно высокие количества живых клеток бифидобактерий и ацидофильной палочки, колонизирующих кишечник человека. Бифидобактерии являются доминирующими микроорганизмами толстого кишечника здорового человека, ацидофильная палочка – один из немногих микроорганизмов, активно размножающихся в тонком кишечнике. Обе эти группы микроорганизмов играют важнейшую роль в жизнедеятельности человека: принимают активное участие в пищеварении, подавляют или ограничивают развитие в кишечнике возбудителей желудочно-кишечных инфекций, образуют биологически активные вещества, стимулируют развитие собственных защитных систем макроорганизма, детоксицируют экзогенные и эндогенные субстраты и метаболиты, в том числе обладающие канцерогенным действием [1750]. При нормальном составе кишечной микрофлоры человека численность бифидобактерий в ней достигает 10,5±0,4 (lg КОЕ/г); у грудных детей они в норме составляют более 99% от общего количества кишечных бактерий. В стрессовых ситуациях, при заболеваниях, антибиотикотерапии численность бифидобактерий и ацидофильной палочки в кишечнике резко сокращается, что представляет угрозу жизнеспособности организма.

Во ВНИИМС в 80-е годы разработана технология биопрепаратов бифидобактерий и лактобактерий, освоено их промышленное производство [1337, 1338]. Наличие этих препаратов позволяет готовить производственные закваски бифидо- и лактобактерий беспересадочным методом. Разработаны принципы технологии бифидосодержащих молочных продуктов для массового питания [1332]. В рамках этого направления создана технология двух сыров данного типа, Айболит и Славянский, с функциональным назначением: профилактика и лечение кишечных инфекций, нормализация состава кишечной микрофлоры [1281, 1282]. Оба сыра относятся к категории мягких сыров без созревания, вырабатываемых при повышенных температурах пастеризации сырья, обеспечивающих денатурацию значительных количеств сывороточных белков и повышение степени использования белков молока в сыре. Жирность сыров – 16–18%, содержание влаги – 56–64%, соли – 0,6–1,2%; предусмотрены варианты с частичной заменой натрия калием. В сырах содержится около 10^8 бифидобактерий и 10^7 КОЕ/г ацидофильной палочки. Клиническая апробация подтвердила высокую эффективность сыров функционального назначения.

13.9. Нитраты, нитриты и нитрозоамины

13.9.1. Нитраты и нитриты

Нитраты при поступлении в организм в определенных количествах могут вызвать остротоксичное заболевание сами, а также восстанавливаться в кишечнике с образованием нитритов и далее нитрозоаминов, обладающих токсичным и канцерогенным действием (разд. 7.2.9). Механизм токсичного действия нитратов до конца не выяснен. Известно, что нитриты действуют на сосудодвигательный и дыхательные центры. Остротоксичное, вплоть до летального исхода, действие на человека наступает при приеме внутрь 15–30 г нитрата калия, 10 г нитрита натрия [1703].

В сыры нитраты поступают по миграционной цепочке: удобрения → почва → корма → животное → молоко → сыр. Согласно Кодексу питания ФАО/ВОЗ в молоке для выработки сыра нитратов должно быть не более 200 мг/кг [976]. Исследования закупаемого молока в России показали, что содержание нитратов в молоке находится в интервале от 0 до 8 мг/кг, т. е. намного ниже допустимой нормы [1694, 1703, 1759]. Однако в производстве твердых сыров нитраты специально вносят в молоко для предупреждения порчи сыров маслянокислыми бактериями [1337]. Нитраты также ингибируют развитие в сырах *List. monocytogenes* – возбудителя листериозов, дающих до 46% смертельных исходов, и энтеробактерий [320]. Нитраты разрешено применять для выработки сыров во всех европейских странах, кроме Франции, Греции, Италии, Швейцарии, в дозе до 20 г/100 кг молока, в России – до 30 г/100 кг.

Нитраты хорошо растворяются в воде, поэтому большая их часть остается в сыворотке, в сыр из молока переходит 4–6% нитратов [976].

Во время выработки и созревания сыров нитраты восстанавливаются под действием микрофлоры вначале до нитритов, затем до аммиака и других соединений азота. Ингибируют рост вредной микрофлоры не сами нитраты, а нитриты. Прямая токсичность нитритов в 40 раз выше, чем нитратов [1759]. Наиболее активно восстановление нитратов до нитритов идет во время выработки, прессования и в начале созревания сыров, т. е. во время наиболее интенсивного развития микроорганизмов. Именно в этот период нужны нитриты для подавления прорастания спор маслянокислых бактерий и роста вредной микрофлоры, которая может попадать в сыр из окружающей среды.

На следующих этапах созревания содержание нитратов и нитритов в сырах снижается. В Российском сыре, выработанном из молока, в которое внесли 10 г/100 кг нитратов, сразу после выработки содержалось 32,0 мг/кг ионов нитратов, в 45-суточном возрасте – 23,0 мг/кг [1694]. Еще быстрее нитраты восстанавливались в Голландском брусковом сыре: после выработки в них содержалось 35,5–41,6 мг/кг нитратов, в 45-суточном возрасте – 0–12,5 мг/кг. При внесении в молоко до 20 г/100 кг нитратов содержание их в зрелых сырах обычно находится в диапазоне от 0 до 40 мг/кг [1031]. Так, при внесении в молоко 20 г/100 кг нитрата натрия содержание нитрат-иона составило (мг/кг): в сыре Коттедж – 0,55; Швейцарском – 0,8; Тильзит – 1,7 и Трапист – 0,77 [1689]. При внесении в молоко 30 г/100 кг нитратов содержание их в 45-суточных сырах может несколько превысить 50 мг/100 кг [1694].

Изменение содержания нитратов в сыре Гауда во время созревания показано на рисунке 13.1 [961]. При внесении в молоко 20 г/100 кг нитратов максимальная концентрация их в сыре равнялась 0,75 мг/кг.

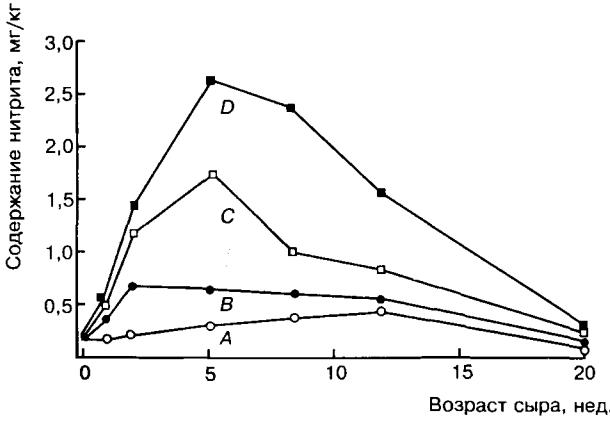


Рис. 13.1. *Изменение содержания нитритов в сыре Гауда, выработанном с различной дозой нитратов в молоке: A – 10 г, B – 20 г, C – 40 г, D – 60 г на 100 л*

Увеличение количества добавляемого в молоко нитрата до 40–60 г/100 кг повысило максимальное содержание нитритов в сыре до 2,6 мг/кг, но в зрелых сырах разница между содержанием нитритов в сырах всех вариантов была незначительна, а абсолютное их содержание в сырах из молока с 20 г/100 кг нитратов равнялось примерно 0,3 мг/кг, из молока с 60 г/100 кг нитратов – 0,4 мг/кг.

Польские ученые нашли в сычужных сырах, выработанных из молока с добавлением нитратов, в среднем 27,4 мг/кг нитратов и 1,75 мг/кг нитритов; конечная их концентрация в сыре зависела не от количества добавленных в молоко нитратов, а от состава микрофлоры сыров [699].

Согласно Кодексу питания ФАО/ВОЗ в сырах должно быть не более 50 мг/кг нитратов, или в пересчете на нитрат-ион – не более 30,7 мг/кг нитрата калия, 36,5 мг/кг нитрата натрия [362].

По результатам опытов на животных ВОЗ установлены допустимые дозы ежедневного потребления нитратов и нитритов с коэффициентом безопасности 1:1000, равные 5 и 0,2 мг/кг массы тела [885]. Ежедневной допустимой дозой считается количество вещества, которое человек может потреблять всю жизнь без ущерба для здоровья. Ежедневное потребление нитратов с пищей находится в диапазоне от 50 до 100 мг, т. е. ниже допустимой нормы. 70–80% нитратов поступает с овощами, а с молоком и молочными продуктами, включая сыры, в организм поступает только 0,2–0,9% от их общего поступления с диетой [885]. Таким образом, сыры не представляют опасности отравления нитратами и нитритами. Тем не менее при производстве сыра Российский целесообразно вносить в молоко не более 20 г/100 кг нитратов, поскольку их трансформация в этом виде сыра идет более медленно [1694]. В производстве этого сыра нитраты вообще можно не использовать, так как при нормальной скорости развития микрофлоры заквасок этот сыр устойчив к маслянокислому брожению.

13.9.2. Нитрозоамины

Известны 60 нитрозоаминов; большинство из них обладает сильным канцерогенным действием, установленным на крысах [885]. Образование нитрозоаминов зависит от количества поступающих в организм нитритов, что учитывается допустимыми нормами их потребления с пищей.

Гистамин и тирамин – основные амины, встречающиеся в сырах, не трансформируются в нитрозоамины. Образование нитрозоаминов происходит преимущественно при pH 2,0–4,5. Сыры имеют более высокий pH, что ингибирует образование в них нитрозоаминов [885]. Некоторые плесневые грибы, например, *Pen. camemberti,* способны образовывать нитрозоамины при pH сыра, но при производстве сыров с плесенями нитраты не вносят в молоко, поскольку грибные сыры абсолютно устойчивы к маслянокислому брожению.

В связи с названными выше причинами нитрозоамины обнаруживаются в сырах из молока с добавлением нитратов редко и в очень низких кон-

центрациях, даже при внесении в молоко 60 г/100 кг нитратов [28, 379, 757, 829, 961]. В большинстве исследованных сыров содержание нитрозоаминов было ниже 0,01 мкг/кг – предельного уровня, выявляемого существующими методами. Максимальная из обнаруживаемых концентраций равнялась 5 мкг/кг [885]. Не установлена корреляция между содержанием в сырах нитратов и нитрозоаминов. Чаще всего в сырах из канцерогенных аминов обнаруживается диметилнитрозоамин. Польские ученые вырабатывали сыры Жулавский, Гауда и Эдам из молока, содержащего 0; 0,01 и 0,02% KNO_3 [978]. В сырах обнаружен н-нитрозодиметиламин (НА) в концентрациях 0,04–3,79 мкг/кг (в отдельных сырах 18,94–168,80 мкг/кг). Концентрация НА не зависела от концентрации нитратов в молоке, но коррелировала с продолжительностью созревания сыров. Авторы считают образование нитрозоамина случайным, не связанным с внесением нитратов в молоко. В молоке с добавлением 0,05–0,20% нитратов нитрозоамины образовывались только при наличии *E. coli* [557].

Пока неизвестно, обладают ли нитрозоамины канцерогенным действием на человека. Основываясь на результатах опытов на животных, предложена максимально допустимая суточная доза нитрозоаминов 5–10 мкг на кг массы тела [885], включающая фактор безопасности. В Англии ежедневно с пищей в среднем потребляется 1 мкг нитрозоаминов, из которых на долю сыров приходится 4% [379]. Если к тому же учесть, что часть нитрозоаминов синтезируется в кишечнике, то сырами как источником нитрозоаминов можно пренебречь. В Японии установлено, что некоторые штаммы молочнокислых бактерий, используемые в производстве ферментированных молочных продуктов, ингибируют патогенность летучих нитрозоаминов путем инактивирования аминокислотных пиролизатов и свободных радикалов [454]. Возражения против внесения в молоко до 20 г/100 кг нитратов в свете этого можно считать необоснованными [1131]. Запрещение применения нитратов ухудшит показатели реализации и безопасности сыров, особенно, в связи с обнаружением у некоторых штаммов возбудителей маслянокислого брожения способности образовывать токсины (гл. 3). Тем не менее в ряде стран нитраты запрещено использовать в сыроделии из-за опасности образования нитрозоаминов.

13.10. Амины

Декарбоксилирование аминокислот во время созревания сыров приводит к образованию аминов. Молочнокислые бактерии, применяемые в производстве сыров, не образуют аминов [509, 1051]. Не образуют аминов и мезофильные лактобациллы *Lbc. plantarum* и *Lbc. casei*, которые в большинстве случаев не входят в состав заквасок, но всегда присутствуют в сырах, где имеется для них экологическая ниша [485, 1051, 1630]. Из сыра Швейцарский выделены штаммы гетероферментативного вида лактобацилл *Lbc. buchneri*, образующие в питательных средах

до 420 мг/кг гистамина [1051]. Этот вид не входит в закваски для производства сыров. Некоторые другие представители посторонней микрофлоры, например, психротрофы, способны образовывать амины в сырах. Амины в сырах также образуют энтерококки, которые присутствуют в большинстве сыров [208]. Максимально возможное ограничение размножения посторонней микрофлоры в сыре – главное условие предупреждения образования аминов в сырах.

В сырах обнаруживаются гистамин, тирамин, триптамин, путресцин, кадаверин и фенилэтиламин, причем первые два чаще других и в значительно более высоких концентрациях. Среднее содержание тирамина и гистамина в сырах по результатам исследований начала 80-х гг. показано в табл. 13.7.

Исследования 43 образцов твердых и мягких сыров, выработанных в Польше и других странах в 90-х г, дали сходные результаты: содержание тирамина в них варьировало в пределах 3,8–575 мкг/г, гистамина – 0–157 мкг/г [314]. Обращает внимание высокое содержание аминов в Чеддере, что можно объяснить его длительным созреванием.

Более низкое содержание аминов в Эмментале и Грюйере, также созревающих длительное время, очевидно, обусловлено тем, что ниша для лактобацилл в этом сыре при нормальном ходе микробиологических процессов занята видами лактобацилл, входящих в закваски для производства этих сыров и не образующих амины. Значительное количество аминов в сыре Голубой, по-видимому, обусловлено ростом в них плесневых грибов. В Коттедже амины вообще не успевают образоваться.

***13.7. Содержание тирамина и гистамина в некоторых сырах* [885]**

Группы сыров	Содержание, мкг/г	
	Тирамин	Гистамин
Чеддер	910	110
Эмменталь, Грюйер	190	100
Голубой сыр	440	400
Эдам, Гауда	210	35
Камамбер, Бри	140	30
Коттедж	5	5

В низкожирных сырах (10–17% жира в сухом веществе) содержание гистамина обычно меньше 150 мкг/г, содержание тирамина – меньше 300 мкг/г; содержание жира не влияло на количество аминов [1083].

Около 35 летучих аминов выделено из рассольного сыра Чанах, среди которых количественно преобладал ди-н-бутиламин (около 20% от общего количества аминов) [1501]. По-видимому, широкий спектр аминов в рассольных сырах обусловлен более интенсивным развитием в них энтерококков.

Амины могут оказать отрицательное влияние на здоровье человека, причем опасные количества их варьируют в широких пределах: для тирамина это количество равно 10–80 мг, для гистамина – 70–1000 мг. Однако в здоровом организме амины быстро расщепляются, не причиняя вреда здоровью [93]. Лица, в организме которых из-за генетических нарушений не образуется энзим моноаминоксидаза, могут после поступления с сыром больше 100 мг тирамина испытывать головную боль.

У гипертоников, принимающих лекарства, содержащие ингибиторы моноаминоксидазы, после поедания сыра может на 0,5–2,0 ч повыситься давление [885]. Сыры, кроме кисломолочных, должны быть исключены из диеты людей с дефицитом моноаминоксидазы в организме [750].

13.11. Микробиальные токсины

13.11.1. Микотоксины

Микотоксины – это токсины, образуемые плесневыми грибами. Токсигенность их установлена в опытах на животных и птицах, опыты на человеке неизвестны.

Существуют три возможных источника микотоксинов в сырах: молоко, в которое они попадают из плесневелых кормов через организм коровы; биомасса плесневых грибов, используемых в производстве мягких сыров, а также «диких» плесневых грибов, растущих на поверхности сыров. Микотоксины в сыром молоке описаны в разд. 7.2.7.

В производстве грибных сыров применяют *Pen. roqueforti* (в сырах типа Голубой), *Pen. caseicolum* и *Pen. camemberti* (сыры с ростом плесневых грибов на поверхности).

Pen. roqueforti образует три главных микотоксина. *Рокфортин* – алкалоид, обнаруживается в сырах в концентрациях 0,05–6,80 мкг/кг, которые слишком малы, чтобы оказать какое-либо влияние на здоровье потребителей сыров [289, 750, 1151].

PR-токсин образуют некоторые штаммы этого вида и только в питательных средах; в сырах он не образуется. Более того, токсин нестабилен: при внесении в сыр вступает в реакцию с аминогруппами и быстро превращается в нетоксичные соединения. В сырах никогда не обнаруживается, даже если они выработаны со штаммами плесеней, образующими этот токсин на питательных средах [118, 288, 289, 741]. В частности, установлено, что *Pen. roqueforti* образует этот токсин в питательных средах с содержанием 15% сахарозы и в строго определенных условиях, которых нет в сырах [118].

Патулин обладает канцерогенными свойствами для мышей. Штаммы, образующие этот токсин, не используются в сыроделии. Более того, этот токсин в сырах быстро инактивируется, вступая в реакцию с сульфгидрильными группами. При экспериментальном обсеменении сыра Тильзит образующими патулин штаммами токсин в сырах не был обнаружен [411]. В опытах Lieu & Bullerman (1977) штаммы пеницил-

лов, способные образовывать патулин и пенициллловую кислоту, давали обильный рост на сырах Швейцарский и Моцарелла, но без образования токсинов, что свидетельствует о возможности ими образовывать токсины в более узком диапазоне физико-химических условий, чем требуемые для роста [750].

В сырах, вырабатываемых с *Pen. roqueforti*, могут иногда обнаруживаться изофумигалавин А (Scott & Kennedy, 1976), микофеноловая кислота (Engel et al., 1982), сидерофоры (Ong & Neilands, 1979) [391]. Обнаруживаются они в низких концентрациях, а сами перечисленные соединения обладают низкой токсичностью, поэтому опасности для здоровья человека при потреблении даже больших количеств грибных сыров не представляют [940].

Pen. camemberti может образовывать циклопиазоновую кислоту [391, 750]. Способность штаммов *Pen. camemberti* синтезировать циклопиазоновую кислоту варьирует в широких пределах и для выработки сыров используют только такие штаммы, которые не могут образовать в них это соединение в количестве, оказывающем вред здоровью потребителя [51]. Так, не было отмечено какого-либо вредного влияния на здоровье мышей при скармливании им Камамбера или Голубого сыра в дозах, эквивалентных 100 г сыра/кг живого веса в день [750].

Pen. caseicolum и *Pen. camemberti* других микотоксинов не образуют. Скармливание этих плесневых грибов или инъекция их экстратов не оказала никакого вредного действия на животных [885]. Более того, этот вид задерживает рост токсинообразующих плесеней [1071].

Из диких плесневых грибов наибольшую опасность представляет *Aspergillus flavus*, продуцент афлатоксинов. Этот вид хорошо растет на свежих и твердых сырах, но не на Голубом и других мягких сырах [489]. В сыре Камамбер, выработанном из молока, в которое внесли афлатоксин, содержание афлатоксина за время созревания снизилось на 25–75% [328].

Рост диких плесеней на поверхности сыров снижает показатели не только безопасности, но и органолептики, о чем рассказано в предыдущей главе. Современная техника позволяет предотвратить их рост на поверхности сыров за счет создания анаэробных условий созревания с помощью специальных покрытий и пленок, обработки поверхности фунгицидами или их включения в покрытия и пленки, улучшения санитарных условий, подачи стерильного воздуха в помещения для выработки и упаковки сыров.

Таким образом, при соблюдении правил гигиены выработки и реализации употребление в пищу сыров не несет угрозы отравления микотоксинами. Сыры с ростом дикой плесени, как и любые продукты, использовать в пищу не рекомендуется.

13.11.2. Бактериальные токсины

Бактерии, применяемые в сыроделии, играют положительную роль в кишечнике человека и вредных для здоровья веществ в сырах не образуют.

Редкие случаи заболеваний через употребление некачественных сыров вызываются посторонней микрофлорой при ненормальным ходе микробиологческих процессов. Причины этого рассмотрены в главах 6 и 12.

13.11.3. Прочие токсичные соединения в сырах

В сыр также могут попадать вредные для здоровья вещества с молоком и не полностью инактивирующиеся во время выработки и созревания сыра. Эти соединения подробно рассмотрены в гл. 7.

13.12. Заключение

Сыры являются ценнейшим источником легко усваиваемого белка, молочного жира, кальция, фосфора. Исследования 90-х годов подтверждают, что включение в диету полножирных сыров не повышает уровень холестерина в крови и может даже снижать его [403]. Присутствующие в молочном жире конъюгированные изомеры линолевой кислоты оказывают профилактическое действие на рак молочной железы, появление липидных бляшек на стенках кровеносных сосудов и развитие атеросклероза [564, 634]. Получены экспериментальные доказательства об антитромботическом действии трех пептидов из $\varkappa$-казеина [43].

Разнообразие физико-химических и органолептических показателей сыров позволяет потребителям выбрать сыр, наиболее полно отвечающий их здоровью, вкусовым наклонностям и традициям.

С точки зрения гигиены питания в сыроделии определилось несколько тенденций:

- увеличение производства сыров с низким содержанием жира, модификацией жировой фазы в направлении повышения доли ненасыщенных жирных кислот;
- снижение степени посолки сыров;
- частичная замена ионов натрия калием;
- включение в микрофлору кисломолочных сыров бифидобактерий и ацидофильной палочки, обладающих высокой диетической ценностью и подавляющих развитие патогенных бактерий в кишечном тракте.

Сыры не являются консервами, и для предупреждения роста в них патогенных микроорганизмов и возбудителей пороков необходимо строго контролировать качество молока и соблюдать правила гигиены при их производстве.

ГЛАВА 14

ГИГИЕНА ПРОИЗВОДСТВА

14.1. Общие понятия

Под *гигиеной сыров* понимается совокупность условий и необходимых мер для их производства, хранения и реализации, обеспечивающих безопасность, хорошие органолептические показатели и полезность при употреблении в пищу. *Качество пищевых продуктов* – совокупность свойств, отражающих их способность обеспечивать потребности человека в пищевых веществах, органолептику, безопасность для здоровья потребителя, стабильность состава и сохранение потребительских свойств [1511]. Иными словами, качество – это степень удовлетворения продуктом требований потребителя.

Согласно Codex Alimentarius различают две группы показателей качества: показатели реализации (ПР) и показатели безопасности (ПБ). ПР включают химический состав, пищевую ценность, органолептические свойства, упаковку, стабильность в хранении (способность сохранять свои свойства на протяжении установленного срока хранения при определенных условиях), достаточность информации о пищевой ценности и способах применения, нанесенной на упаковку, удобство применения, цену на продукт и др. ПР определяются стандартами, технологическими условиями и другими нормативно-техническими документами и носят договорной характер между производителем и потребителем; в лице последнего выступает государство или какие-либо другие организации (торговые, санитарные, объединения потребителей). ПР, с одной стороны, отражают требования потребителя, с другой, возможности производителя, уровень развития техники и технологии. Чем полнее ПР удовлетворяют требования потребителя, тем выше качество и конкурентоспособность продукта.

ПБ определяют безопасность продукта для потребителя при условии его употребления в пищу согласно устанавливаемых правил.

Требования безопасности, в отличие от требований по реализации, носят не договорной, а обязательный характер, независимо от того, включаются ПБ в нормативно-техническую документацию или нет.

Казалось бы, между ПР и ПБ должна быть тесная взаимосвязь, но это наблюдается не всегда. Размножение стафилококков в сыре, например, практически не отражается на органолептических показателях продукта, поскольку основные продукты обмена веществ стафилококков и лактококков в анаэробных условиях одинаковы, но может создать серьезные угрозы здоровью потребителя за счет образования в продукте энтеротоксинов. С другой стороны, большинство микробиологических воз-

будителей пороков сыров ухудшают ПР, не создавая угрозы здоровью потребителя. Гигиена сыра основное внимание уделяет показателям безопасности.

ПБ можно разделить на физические, химические и микробиологические. К физическим относят загрязнение продукта посторонними веществами (металлическими предметами, осколками стекла, бумагой, навозом, грязью, волосами, насекомыми и др.), попадание которых в организм может нанести вред здоровью или вызвать резко отрицательную эмоциональную реакцию потребителя.

К химическим относится загрязнение продукта токсичными соединениями: тяжелыми металлами (Pb, Cd, Cu, Hg, As, Zn), токсинами, пестицидами, нитратами, антибиотиками, остатками других лекарственных средств и т. д.

К микробиологическим ПБ относят наличие и количество микроорганизмов (ПО), способных образовывать токсины или вызывающих заболевание потребителя путем попадания в организм с продуктом в виде живых клеток. Заболевания, вызываемые потреблением продуктов, содержащих токсин, называют *токсикозами*, содержащих живые клетки возбудителей болезни – *токсикоинфекциями*. К возбудителям токсикозов относятся стафилококки, *Clostridium botulinum*, токсикогенные плесени (*Asp. flavus* и др.); к возбудителям токсикоинфекций – сальмонеллы, энтеропатогенные кишечные палочки, *List. monocytogenes*, *Y. enterocolitica*, *Campylobacter* и некоторые другие микроорганизмы. Токсикоинфекции происходят при поступлении в организм вместе с продуктом не менее определенного количества живых клеток возбудителя, называемого *минимальной инфицирующей дозой* (МИД). Токсины в продуктах образуются при размножении возбудителей до определенного уровня, зависящего от свойств возбудителя и продукта. Образование токсинов может происходить на любом этапе производства продукта; наличие живых клеток возбудителя токсикозов в продукте в момент его потребления не играет роли в возникновении этого типа заболеваний. Как правило, токсины в продукте сохраняются более длительное время, чем жизнеспособные клетки. Таким образом, необходимым условием пищевых заболеваний является попадание в продукт и размножение возбудителей до определенного (критического) уровня.

Содержание возбудителей в пищевых продуктах, как правило, нормируется медико-биологическими требованиями, ГОСТами и техническими условиями на продукт. Обычно нормируют содержание коагулазоположительных стафилококков (разд. 6.7) и, согласно записи в нормативно-технической документации, «*патогенных бактерий*», в т. ч. сальмонелл. Однако используемый до настоящего времени метод выявления патогенных бактерий учитывает только количество сальмонелл.

Особо вирулентные микроорганизмы (возбудители туберкулеза, бруцеллеза, тифа и паратифа, дифтерита, большинство видов шигелл – возбудителей дизентерии и др.) могут вызывать заболевания при попа-

дании в организм очень небольшого количества клеток и их размножение в продукте не обязательно для того, чтобы вызвать болезнь; в этом случае продукт является переносчиком возбудителей инфекции. Заболевания, вызываемые этими микроорганизмами, не относят к пищевым токсикоинфекциям; чаще всего они передаются контактно-бытовым или водным путями, так как в продуктах клетки возбудителей сравнительно быстро погибают. Однако это деление весьма условно. Так, шигелла дизентерии I может вызвать дизентерию, не размножаясь в продукте (МИД для этого вида равна 1–10 клеткам), а шигелла Зонне должна размножиться в продукте, так как этот вид вызывает дизентерию при попадании в организм взрослого человека не менее 10 млн. клеток. Шигелла Зонне более устойчива к действию неблагоприятных факторов, в том числе к продуктам метаболизма молочнокислых бактерий, чем другие виды шигелл, поэтому она более длительное время выживает в продуктах и намного чаще вызывает пищевые заболевания. Таким образом, шигелла Зонне фактически вызывает заболевания дизентерией по типу пищевых токсикоинфекций.

В большинстве развитых стран передача инфекций типа дизентерии через сыры представляет исторический интерес, что обусловлено повсеместной пастеризацией молока и соблюдением требований гигиены получения и переработки молока [869]. В связи с этим содержание микроорганизмов третьей группы не нормируется в сырах и других молочных продуктах. С этим можно согласиться, за исключением шигелл, заражение которыми молочных продуктов происходит главным образом после пастеризации молока. В нашей стране пищевой фактор играет важную роль в передаче дизентерии.

Для оценки безопасности продукта часто используют непрямые методы, заключающиеся не в исследовании продукта на наличие микробиологических токсинов или живых клеток возбудителей пищевых инфекций, а в определении содержания так называемых санитарно-показательных (индикаторных) бактерий. Индикаторные бактерии не являются патогенными микроорганизмами, но по их количеству в продукте можно судить об уровне гигиены при производстве данного продукта и о вероятности заражения продукта патогенной микрофлорой. В сыроделии индикатором гигиенических условий производства служит количество БГКП, а в плавленых сырах также содержание мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (по старой номенклатуре «общее количество бактерий»). Считается, чем выше содержание в продукте санитарно-показательных микроорганизмов, тем больше вероятность присутствия в них патогенных и потенциально патогенных микроорганизмов. БГКП в сырах есть всегда, а сальмонеллы, шигеллы встречаются сравнительно редко (разд. 6.2.2), но если в сыре есть шигеллы, то в нем обязательно будет высокое содержание БГКП. Это обусловлено тем, что основным источником заражения продуктов шигеллами являются фекалии людей с желудочно-кишечными заболе-

ваниями, а в фекалиях всегда есть БГКП. Однако БГКП хорошо размножаются в молоке, во время выработки сыра и являются постоянными представителями микрофлоры окружающей среды на сыродельных предприятиях. Поэтому главными источниками заражения сыров БГКП являются не фекалии, а сам завод (оборудование, молокопроводы, воздух, стены и полы и др. объекты внешней среды). Количество БГКП в продукте зависит не только от гигиенических условий производства, но и от технологических режимов. Последнее не снижает ценности уровня содержания БГКП как индикаторного показателя, поскольку при создании в продукте условий для более интенсивного размножения БГКП улучшаются условия для размножения патогенных и потенциально патогенных бактерий.

В нормируемые микробиологические показатели пищевых продуктов иногда включают содержание микроорганизмов, от которых зависит их микробиологическая стабильность. В нормативно-технической документации на плавленые сыры показателем стабильности является содержание плесневых грибов и дрожжей, хотя большую опасность для плавленых сыров представляют не дрожжи, а споровые анаэробы, включая *Cl. botulinum*. Известны единичные случаи смертельных отравлений плавленными сырами, упакованными под вакуумом, вызванные *Cl. botulinum*. В ГОСТе на закупаемое молоко для сыроделия 1988 г. и технологической инструкции по производству сыров в молоке для сыроделия, кроме общего количества микроорганизмов, нормируется содержание спор лактатсбраживающих маслянокислых бактерий.

Не менее 90% заболеваний пищевого происхождения обусловлены микробиологическими факторами. Поэтому система управления качеством должна обращать особое внимание на управление микробиологическими процессами. Это тем более важно, что и ПР таких продуктов, какими являются сыры, также в большой степени определяются интенсивностью и направленностью микробиологических процессов на каждом этапе их выработки.

Задачами управления микробиологическими процессами являются:

- обеспечение оптимальных условий развития микрофлоры, осуществляющей формирование органолептических показателей и создание неблагоприятных условий для размножения ПО и технически вредной микрофлоры (ТВМ);
- сведение до минимально возможного уровня попадания в продукт ПО и ТВМ уничтожением микрофлоры в молоке и другом сырье пастеризацией или другим видом обработки и максимально возможное снижение обсеменения сырья после антибактериальной обработки;
- предотвращение размножения в продукте ПО и ТВМ до критического уровня.

Управление микробиологическими процессами – составная часть системы управления качеством, целью которой является обеспечение стабильного выпуска продукции, гарантирующего безопасность для пот-

ребителя и требуемые ПР. Комплекс необходимых для этого мер называют интегральной системой управления качеством. Эта система должна осуществляться в трех измерениях: по длине – на протяжении всей пищевой цепочки (для молочных продуктов – от земли и животного до потребителя); по ширине – охватывать все объекты, способные оказать влияние на ПР и ПБ; по высоте – за качество конечного продукта должны отвечать все – от скотника до директора, причем степень ответственности с высотой повышается.

Часто в управлении качеством основное внимание обращают на контроль готового продукта, что совершенно неправильно. Полный контроль готового продукта требует очень больших затрат квалифицированного труда, времени, дорогого оборудования, причем не все скрытые пороки можно выявить аналитическими методами. Так, например, для того чтобы вызвать порчу сыра, достаточно наличия в продукте нескольких спор/г *Cl. tyrobutyricum*, которых можно не обнаружить. К тому же необязательно, чтобы споры равномерно распределялись в продукте: в одной головке они могут быть, в другой – нет, так как маслянокислые бактерии растут колониями. Нужно также иметь в виду, что в свежевыработанном продукте большая часть неуничтоженных в процессе выработки вегетативных клеток вредной микрофлоры может находиться в состоянии шока, обусловленного сублетальными повреждениями. Эти клетки стандартные методы анализа не выявляют, и большой опасности для продукта они не представляют. Однако во время последующего созревания, хранения и реализации сыров такие клетки «излечивают» (репарируют) полученные повреждения и могут представлять опасность для ПБ и ПР. Количество бактериальных клеток с сублетальными повреждениями в продукте зависит от режима пастеризации и гигиены получения и обработки сырья.

Выбраковка сыра на последнем этапе наносит предприятию большие убытки. В связи с этим управление качеством нужно проводить по всей длине и ширине пищевой цепочки.

Интегральная система управления качеством, с технической точки зрения, должна включать следующие элементы:

- выбор и реализацию оптимальных режимов выработки, созревания, хранения сыра с учетом конкретных особенностей предприятия (состава и свойств сырья, технической оснащенности, специфических требований потребителей, условий сбыта и др.);
- соблюдение установленных требований гигиены по отношению к зданиям и сооружениям, оборудованию, территории; обеспеченности предприятия паром, холодом, горячей и холодной водой, системами мойки и дезинфекции оборудования, инвентаря, производственных помещений; удалению отходов производства и сточных вод;
- правильный и полный выбор объектов управления (критических контрольных точек);
- анализ возможного ущерба качеству конечного продукта на каждом объекте и этапе;

- контроль (показатели, нормативы, технические средства);
- мониторинг качественных показателей на каждом объекте (этапе).

С организационной точки зрения, система управления качеством должна предусматривать:

- ответственных за состояние дел на каждом объекте (в зависимости от объекта – технолог, микробиолог, механик или комплексная команда);
- порядок устранения выявляемых недостатков;
- экономические и административные санкции в отношении виновников допускаемых нарушений;
- постоянную учебу персонала.

Управление производственными процессами в сыроделии с точки зрения формирования требуемых ПР детально рассматривалось в предыдущих главах. В этой главе основное внимание уделено гигиеническим требованиям к сыроделию, соблюдение которых должно гарантировать безопасность сыра и которые были только частично освещены в предыдущих главах.

При оценке степени опасности пищевых продуктов обычно рассматривают три обстоятельства [869]:

- возможности размножения в продукте микроорганизмов, выдерживающих пастеризацию или попавших в продукт после пастеризации;
- опасность заражения продукта микроорганизмами из окружающей среды после тепловой обработки сырья;
- наличие кулинарной обработки перед употреблением в пищу.

В предыдущих главах показано, что патогенная микрофлора может размножаться во время выработки и на начальных этапах созревания сыров (пока в сыре не сброжена лактоза и головки сыра не покрыты кислородонепроницаемыми покрытиями). Велика опасность послепастеризационного загрязнения сыров патогенными микроорганизмами и возбудителями порчи из воздуха, через инвентарь, оборудование, персонал, рассол. И наконец, сыры употребляются в пищу, как правило, без кулинарной обработки. Положительные ответы на все три вопроса заставляют отнести сыры к продуктам высокого риска, т. е. к продуктам, вероятность развития ПО в которых весьма велика. Безоговорочно это можно отнести только к сырам без созревания, так как во время созревания происходит постепенное вымирание ПО в сыре, поэтому токсикоинфекции созревающими сырами происходят редко. По-видимому, твердые созревающие сыры занимают промежуточное положение между продуктами среднего и высокого риска.

14.2. Управление выработкой и созреванием твердых сыров

ММФ рекомендует для обеспечения безопасности молочных продуктов разрабатывать и реализовывать системы на основе «анализа

опасности нанесения вреда потребителю (ПБ) и продукту (ПР) в контрольных критических точках», принципы которого были разработаны и апробированы в космонавтике. Под *контрольными критическими точками* понимают этапы производственного процесса, на которых возможно и необходимо принимать меры, исключающие появление тех или иных пороков продукта. Непринятие в этих точках требуемых мер наносит непоправимый на дальнейших этапах вред продукту.

Подобная система включает:

- правильный выбор контрольных критических точек (ККТ);
- анализ ущерба качеству сыра, который может быть нанесен в каждой контрольной точке;
- оптимальные и предельные параметры процесса или состава продукта в данной ККТ, обеспечивающие качество продукта;
- мониторинг: систематический контроль за нормируемыми показателями, установление причин отклонения значений этих параметров от нормы и разработка мер по их устранению;
- корректирующие действия в случае отклонения процесса от оптимально возможного уровня.

В таблице 14.1 приведен пример системы управления технологическими процессами производства твердых сыров. Это именно пример, так как такие системы должны разрабатываться на каждом предприятии с учетом конкретных его особенностей и ассортимента вырабатываемых сыров.

14.3. Гигиенические требования к составным элементам производства сыра

Соблюдение технологии получения молока и производства сыров может гарантировать выработку сыров с высокими ПР и ПБ только в том случае, если молоко и сыр не будут массивно обсеменяться микрофлорой и бактериофагами после пастеризации. Поскольку выработка сыров проводится в контакте с нестерильной окружающей средой, этого можно достичь только при выработке сыров в безопасных экологических условиях (в условиях, удовлетворяющих требованиям гигиены). Окружающая среда и персонал являются главным источником загрязнения сыра из пастеризованного молока патогенной микрофлорой. Ниже приводятся требования гигиены для составных элементов производства сыра.

14.3.1. Расположение сыродельных предприятий и территория

Сыродельные заводы следует располагать в зонах с чистым воздухом (отсутствие пыли, дыма и копоти, запахов), в достаточном удалении от мест сбора мусора и других отходов, очистных сооружений, промышленных предприятий, зарослей дикой растительности, в которой могут размножаться грызуны и другие вредители и переносчики возбудителей инфекций (птицы, насекомые). Территория завода не должна затопляться.

14.1. Система управления качеством сыра по контрольным критическим точкам (ККТ)

№	ККТ	Анализ возможного ущерба качеству	Нормативы	Методы коррекции
1	2	3	4	5
		I. Производство молока		
1.1	Корма			
1.1.1	Состав	Несбалансированность, недостаточная обеспеченность энергией и протеином изменяют состав и свойства М, в частности снижают содержание протеина, ухудшают технологические свойства сгустка, ПР, снижают выход С и могут сделать М несыропригодным	В соответствии с зоотехническими нормами	Обеспечение коров достаточным количеством кормов, правильное составление рационов. Отбор поставщиков, стабильно поставляющих сыропригодное М, коррекция минерального состава кормов
1.1.2	Химич. загрязнители	Наличие в кормах пестицидов, тяжелых металлов, микотоксинов, антибиотиков, алкалоидов, эфирных масел и т. д. приводит к загрязнению ими М, понижает активность м/ф закваски, ухудшает ПР и ПБ продукта	ИППКМП	К кормов на содержание вредных для С веществ, мониторинг экологических условий в зонах производства кормов, регулирование состава трав на пастбищах и местах заготовки кормов, отбор поставщиков М для С. Санкции к поставщикам загрязненного М, усиленный К М от таких поставщиков
1.1.3	Микробные загрязнители	Высокое содержание спор маслянокислых бактерий в силосе ведет к обсеменению ими М, порокам С (позднему вспучиванию, прогорклому вкусу, мажущейся консистенции, рваному рисунку, белой окраске сырного теста). Силос может быть загрязнен листериями	Не более 1000 спор маслянокислых бактерий в 1 г силоса	Соблюдение технологии силосования, применение заквасок, органических кислот, К кормов на содержание спор, скармливание силоса только после дойки. Использование М на С из хозяйств, имеющих качественный силос. Высокий уровень гигиены на фермах

1	2	3	4	5
1.2.	Здоровье коров	При заболевании коров ухудшается химический состав М (снижается содержание общего белка и казеина, Са, Р), М обсеменяется ПО в вымени или через загрязняемую животными окружающую среду, сокращается бактерицидная фаза, ухудшаются синерезис сгустка, ПР и ПБ, выход сыра	Количество соматических клеток в М не должно быть выше 500 тыс./мл	Своевременное выявление и лечение больных коров, изоляция больных животных, выбраковка коров, не поддающихся лечению. Использование М от больных или подозреваемых на заболевание коров в соответствии с ветеринарным законодательством. К и сортировка М при приемке. Не использовать молозиво и стародойное М
1.3	Получение М	Нарушения санитарных правил получения М приводят к его загрязнению ПО, ТВО, токсинами, антибиотиками, моющими и дезинфицирующими средствами, навозом, что снижает активность м/ф закваски в молоке, ухудшает ПР и ПБ сыра	Санитарные правила производства М, утверждаемые в установленном порядке	Надлежащий уход за кожными покровами и выменем, своевременная уборка навоза, соблюдение правил мойки и дезинфекции молочного оборудования и инвентаря, личная гигиена персонала ферм, использование воды питьевого качества. Соблюдение правил эксплуатации доильных машин для предупреждения повреждений тканей вымени
1.4	Хранение М	Хранение М в неадекватных условиях ухудшает микробиологические и химические показатели, в частности повышает его кислотность, может привести к образованию биологически активных веществ, не разрушаемых П (энзимов, токсинов, ингибиторов роста), ухудшает ПР и ПБ С	Т и время хранения, порядок мойки и дезинфекции оборудования. ТИ, ИППКМП	Охлаждение М не позднее чем за 2 ч после дойки до 10° С и ниже при хранении до 24 ч и до 4–5° С при хранении до 2-х сут, мойка и дезинфекция контейнеров для хранения М после каждого опорожнения. Хранение М в отдельных помещениях в закрытых контейнерах

1	2	3	4	5
1.5	Транспортировка	Загрязнение м/ф, размножение м/ф, снижение ПО и ПБ сыров	Т М не должна превышать 10° С	Тщательная мойка и дезинфекция цистерн, фляг после каждого опорожнения, пломбирование емкостей с М, соблюдение графиков доставки, доставка сыворотки и обезж. молока в отдельной таре или в пастеризованном виде. Твердые покрытия подъездных путей
		II. Сортировка при приемке и подготовка молока		
2.1	Приемка и сортировка	Нарушение санитарных правил при приемке ведет к загрязнению внешней среды и М м/ф. Смешивание несыропригодного М с доброкачественным может сделать несыропригодным все М и снизить ПР и ПБ сыров	Ст. на закупаемое М, ТИ и ИППКМП. Показатели К: кислотность, содержание белка, м/ф, соматических клеток, спор лактатсбраживающих анаэробов, ингибиторов, содержание психротрофной м/ф не более 10^6/мл	Твердое покрытие заводского двора, немедленное удаление пролитого М с покрытий. Хранение пищевых отходов в недоступных для грызунов контейнерах. Ополаскивание цистерн перед разгрузкой в отведенном для этого месте, хранение шланга для подачи М с заглушенным отверстием. Наличие справки о получении М от здоровых коров. Оснащение приемной лаборатории техникой и квалифицированными кадрами. М с низким содержанием белка, наличием ингибиторов, высоким содержанием соматических клеток, с кислотностью <16°Т непригодно для выработки С. Дефекты М с кислотностью 19–21° Т устраняются смешиванием его с М с кислотностью 16–17° Т, М с высоким содержанием спор перерабатывают на кисломолочные, мягкие, рассольные С, М с высоким содержанием психротрофов – на сыры с коротким созреванием и без созревания. Мониторинг качества

1	2	3	4	5
				М каждого поставщика, выбор поставщиков М для С
2.2	Очистка	Загрязнение М посторонней м/ф, снижение эффективности П, ухудшение ПР и ПБ		Регулярная смена фильтрующего материала и разгрузка молокоочистителя. Установка более эффективных очистительных систем
2.3	Резервирование	Попадание и размножение посторонней м/ф, ухудшение ПР и ПБ С	Содержание психротрофов в М после созревания и резервирования должно быть не более 10^6 КОЕ/мл	Т молока должна равняться 2–6° С, максимальное сокращение времени хранения. Полное освобождение от М, очистка и дезинфекция танков после каждого опорожнения. К содержания психротрофов; при высоком их содержании – ревизия системы очистки и дезинфекция емкостей для хранения, проверка контрольных термометров
2.4	Созревание М	Попадание и размножение посторонней м/ф, изменение состава и свойств М, образование биологически активных веществ, снижение выхода, ПР и ПБ сыра	Кислотность М после созревания должна быть 18–19° Т	К продолжительности и Т созревания. Созревание М с высокой бакобсемененностью проводить после П с добавлением специальной закваски, $CaC1_2$ и термизацией после созревания
2.5	Пастеризация	Выживание ПО, загрязнение термостойкой м/ф, ухудшение технологических свойств М, ухудшение ПР и ПБ сыра	Т и время выдержки: 72–75° С, 15–25 с, фосфатазная проба отрицательная, отсутствие БГКП в 10 мл. Показания термометра нужно проверять не реже	Применение пастеризаторов, обеспечивающих соблюдение режима П, оснащенных устройствами для автоматического контроля и регистрации Т, возвратным клапаном, автоматического К уровня в балансовом бачке, контрольными термометрами, устройствами для измерения давления М и теплоносителя в секциях. Давление пастеризованного М в секции регенерации должно быть выше, чем

1	2	3	4	5
			одного раза в год, содержание БГКП – раз в 10 дней. Ежедневный К термограмм	сырого, минимум на 5 кПа, а в секции пастеризации – выше, чем давление горячей воды. Регулярная проверка на отсутствие течи через прокладки, трещин в пластинах, правильность функционирования всех систем пастеризатора; очистка пастеризатора через каждые 6 ч непрерывной работы. Периодическая проверка М на выходе из пастеризатора на содержание термофильного стрептококка
2.6	Добавление хлористого Са	Избыточное количество, загрязнение $CaCl_2$ солями Mg вызывает появление горечи, резинистой, твердой консистенции в сыре	Не более 40 г/100 л М	Не перерабатывать сычужновялое и незрелое М, не превышать Т пастеризации, часть хлористого Са добавлять в пастеризованное М перед созреванием, использовать $CaCl_2$ нужной чистоты
2.7	Внесение селитры	Отказ от селитры повышает чувствительность сыров к БГКП и маслянокислым бактериям, излишек вызывает горечь, снижает ПБ, ингибирует рост пропионовокислых бактерий, что ухудшает вкус, рисунок и может вызвать появление красной или розовой окраски теста сыра	До 20–30 г/100 л М	Использовать М с допустимым содержанием спор маслянокислых бактерий, соблюдать требования гигиены при выработке. Не использовать в производстве крупных сыров. Весной и осенью применять антагонистические закваски, корректировать технологию сыров
		III. Молокосвертывающие энзимы		
3.	Внесение в М молокосвертывающих энзимов	Горечь в С при использовании энзимов низкого качества или в больших дозах, особенно при высокой кислотности сырного зерна, обсеменение С вредной м/ф	Качество и доза энзимов, ТУ на энзимы	Не перерабатывать М с повышенной кислотностью, не допускать излишнего нарастания кислотности сыворотки во время выработки. К качества энзимов. Соблюдение правил приготовления растворов энзимов

1	2	3	4	5
		IV. Закваски		
4.	Применение заквасок	Низкая активность создает большие возможности для размножения ТВО и ПО, что снижает ПР и ПБ сыров. Неадекватный состав и свойства м/ф заквасок могут быть причиной горечи, посторонних привкусов, отсутствия или рваного рисунка и других пороков сыра. Загрязнение закваски ТВО и ПО м/ф во время ее приготовления может сделать закваску самым важным источником обсеменения сыра вредной м/ф. Попадание в закваску бактериофага ведет к быстрому снижению ее активности	Время сквашивания и кислотность М во время приготовления закваски. Ст. и ТУ на закваски	Соблюдение правил хранения, приготовления и ротации заквасок, преимущественное приготовление заквасок беспересадочным способом с активизацией бакконцентратов. При необходимости срочной замены закваски – внесение концентратов непосредственно в молоко для выработки сыра. Герметизация заквасочной, автономная система приточной вентиляции со стерилизацией подаваемого воздуха, мойка и дезинфекция технологического оборудования и инвентаря после каждой выработки С. Герметизация заквасочников с созданием стерильным воздухом избыточного давления внутри заквасочника. Фаговый мониторинг
		V. Выработка и созревание сыра		
5.1	Образование сгустка	При недостаточной обсушке зерна С имеют излишне кислый вкус, самокол, более благоприятные условия для размножения вредной м/ф. Излишняя обсушка – замедление созревания, грубая консистенция, низкий выход. Медленное нарастание кислотности – интенсификация роста вредной м/ф. Слишком высокая кислотность сыворотки – кислый, горький вкус, крошливая, колющаяся консистенция, мелкий или слепой рису-	Скорость нарастания кислотности сыворотки, содержание влаги, pH и количество БГКП в С после прессования. ТИ и ИМК	Использование сыропригодного, зрелого М, К времени и Т пастеризации и II нагревания, дозы и активности закваски, предупреждение загрязнения лактококковых заквасок лактобациллами. При интенсивном нарастании кислотности сыворотки – разбавление сыворотки водой, при плохой обсушке зерна – повышать дозу закваски и на 1–2° С Т II нагревания, не вносить соль в зерно, использовать М с содержанием >3% белка и <500 тыс/мл соматических клеток. Учеба кадров

1	2	3	4	5
		нок. Излишняя обсушка зерна и образование больших количеств сырной пыли – причина незамкнутости поверхности С и развития подкорковой плесени		
5.2	Формование	Образование пустотного рисунка		Все операции во время формования проводить под слоем сыворотки, не допускать попадания воздуха во время подачи смеси сыворотки с зерном в формовочный аппарат
5.3	Прессование	Недостаточная замкнутость поверхности создает условия для роста подкорковой плесени и других ТВО. Деформация головок, образование частого и мелкого рисунка	Режимы прессования приведены в ТИ	Соблюдение продолжительности самопрессования, Т, продолжительности и давления прессования, применение качественных дренажных материалов, соблюдение правил мойки перфорированных форм, правильная установка форм под пресс, поддержание Т прессования на уровне 20–22° С
5.4	**Посолка**	Излишняя посолка в зерне ингибирует газообразование закваской, создает благоприятные условия для роста ПО, снижает ПБ, ухудшает вкус, консистенцию и рисунок. Слабая посолка в рассоле интенсифицирует размножение ТВО, снижает ПР и ПБ, увеличивает опасность появления горечи. Низкая концентрация соли в рассоле – загрязнение С вредной м/ф, в частности солеустойчивыми лактобациллами, вызывающими пороки вкуса и растрескивание поверхности	Регламентируется Ст. и ТУ. Для мелких С оптимальная концентрация соли в водной фазе 4–6%, для крупных – около 2%	Строгий контроль количества соли, вносимой в зерно, и продолжительности выдержки в рассоле. Использовать рассол с содержанием не менее 20% соли и кислотностью 25–35° Т, регулярно проводить пастеризацию рассола, обработку H_2O_2 или ультрафильтрацией. Солить в рассоле сыры с хорошо замкнутой поверхностью. Использовать соль регламентированного ТУ качества

1	2	3	4	5
5.5	Созревание С	Развитие ТВО и ПО, в том числе поверхностной м/ф, излишняя усушка сыра. Низкие Т – слабовыраженный вкус, горечь	Т и относительная влажность по ТУ и ТИ	Строгий К Т и влажности в помещениях для созревания, обеспечение одинаковой Т и влажности во всем объеме камер за счет правильной системы циркуляции воздуха, быстрое наведение корки или своевременная упаковка сыра в пленки, слабопроницаемые для кислорода и водяных паров, обработка поверхности сыров фунгицидами (дельвоцидом, имбрицином, сорбиновой кислотой и др.). Периодическое переворачивание головок сыра, соблюдение правил укладки сыров в контейнеры. Замена деревянных полок полками из более гигиеничного материала
5.6	Покрытия: восковые сплавы, латексы, пленки	Некачественные покрытия приводят к загрязнению продукта химическими веществами и м/ф, создают условия для роста поверхностной м/ф, снижают ПР и ПБ	Требования к покрытиям регламентируются ТУ и ТИ	Покрытия должны предохранять продукт от контакта с внешней средой, пропускать минимальные количества O_2 и водяных паров, быть прочными, нетоксичными, компоненты покрытий не должны диффундировать в С и придавать ему посторонние привкусы и запахи
		VI. Готовый продукт		
6.1	Контроль качества	Недостаточный К может привести к выпуску в реализацию некачественного продукта, к экономическим и юридическим санкциям, снижает конкурентоспособность продукции, может вызвать заболевания	Показатели К регламентируются Ст., ТУ, ИППКМП	Оснащение контролирующих органов современным оборудованием. Широкое использование инструментальных методов. Разработка и строгое выполнение правил реализации, тесный контакт с торговлей и покупателями

1	2	3	4	5
6.2	Хранение	Загрязнение химическими веществами и м/ф, размножение ТВО и ПО, механические повреждения и деформация головок, снижение ПР и ПБ	Условия хранения регламентируются Ст., ТУ, ТИ	Поддержание требуемых Т и влажности, соблюдение правил складирования, хранение отдельно от продуктов, обладающих специфическим запахом. Недопустимо хранение мелкопорционированных сыров в аэробных условиях и длительное время

Условные обозначения: Б – бактерии; ИМК – инструкция по микробиологическому контролю; ИППКМП – Инструкция по порядку и периодичности контроля за содержанием микробиологических и химических загрязнителей в молоке и молочных продуктах на предприятиях молочной промышленности; инструкция по технохимическому контролю; К – контроль; М – молоко; м/ф – микрофлора; П – пастеризация; ПБ – показатели безопасности; ПР – показатели реализации; ПО – патогенные микроорганизмы; С – сыры; Ст. – стандарты; Т – температура; ТВО – технически вредная м/ф; ТУ – технические условия; ТИ – технологические инструкции по производству сыров.

Заводской двор и подъездные пути должны иметь твердые покрытия; на дворе должен быть уклон к местам стока, чтобы не допустить накопления на поверхности влаги, способствующей размножению микроорганизмов. На дворе должно быть место для наружной мойки цистерн с молоком перед подачей их на разгрузку. Молоко, разлитое на поверхности двора, является хорошей средой для роста патогенной микрофлоры, поэтому в случае разлива молока оно должно немедленно удалятся. Покрытие на месте приемки следует поддерживать в сухом состоянии.

Очень важно поддерживать двор в чистоте, для того чтобы уменьшить опасность размножения грызунов, птиц, насекомых (в дальнейшем вредителей) вблизи завода.

14.3.2. Здания и сооружения

Здания и сооружения должны быть прочными, содержаться в хорошем состоянии и надежно защищать внутренние помещения от внешних факторов, в частности от сырости. Особое внимание следует обращать на состояние крыш (желательно, чтобы угол наклона крыши к горизонту был не менее 20 градусов), водостоков, герметичность трубопроводов и отверстий для прохода трубопроводов внутрь производственных помещений.

Площадь рабочих помещений должна быть достаточной для удобного проведения производственных процессов, ремонта, уборки и санитарной обработки.

Здания должны быть так сконструированы, чтобы предотвратить проникновение насекомых, птиц, грызунов, загрязненного воздуха внутрь здания. Все входные отверстия (окна, двери, канализационные люки) должны быть оснащены сетками, решетками или другими устройствами, препятствующими проникновению внутрь здания насекомых, птиц, а также загрязненного воздуха. В производственных помещениях желательно поддерживать небольшое избыточное давление подачей чистого воздуха через вентиляционную систему, для того чтобы предупредить попадание в них неочищенного воздуха извне.

Производственные помещения должны иметь достаточное освещение, интенсивность которого зависит от характера выполняемых в освещаемых местах операций: она должна равняться 540 люкс в инспекционных точках и 220 люкс в остальных. Светильники, расположенные над продуктом или упаковочными материалами, должны быть закрытого типа, предотвращающие загрязнение продукта осколками стекла.

Температура и влажность в производственных помещениях должны поддерживаться на оптимальном для получения высокого качества продукта уровне.

Внутреннее устройство здания должно быть таким, чтобы исключить возможность накопления пыли или грязи. Для достижения этого полы, стены, потолки должны быть сделаны из водонепроницаемых, не адсорбирующих грязь, легко моющихся, нетоксичных материалов.

Полы не должны иметь трещин, выбоин, где может скапливаться влага с остатками молока и размножаться вредная микрофлора и бактериофаги; они должны иметь уклон к канализационным люкам и по возможности поддерживаться в сухом состоянии, быть нескользкими.

Стены до определенной высоты должны быть облицованы гладким прочным материалом и не должны иметь трещин и других повреждений, в которых могут размножаться насекомые, бактерии и плесневые грибы, скапливаться грязь. Необлицованные части стен должны регулярно белиться с добавлением в побелочную смесь 3% медного купороса или других фунгицидных препаратов, разрешенных органами здравоохранения. Потолки должны быть сделаны из непроницаемых для паров и жидкостей материалов, не адсорбирующих грязь и не стимулирующих конденсацию паров, для того чтобы в максимально возможной степени предотвращать рост плесневых грибов.

Экраны на открывающихся окнах должны легко сниматься и регулярно очищаться. Внутренние подоконники должны иметь уклон, чтобы на них не накапливалась грязь.

Двери желательно иметь самозакрывающимися. Двери, которые большую часть времени открыты, должны иметь ленточные экраны, отпугивающие насекомых.

Сооружения, поднятые над полом, должны быть так сконструированы, чтобы на них не скапливалась грязь и не образовывался конденсат; они не должны быть источником загрязнения продукта на низлежащем уровне.

Трубы для холодной воды и других жидкостей с низкой температурой, на которых образуется конденсат, должны располагаться так, чтобы капли конденсата не попадали в продукт.

Помещения, в которых вырабатывается и созревает сыр, готовят закваску, расфасовывают и упаковывают готовую продукцию, считаются зонами повышенного риска; они должны быть физически отделены (стенами, перегородками) от помещений, в которых хранят или обрабатывают сырье, механических мастерских, бойлерных, жилых и бытовых помещений, помещений для хранения непищевых материалов; вход в производственную зону должен быть строго ограничен; вход персонала в производственные зоны должен осуществляться только через раздевалки, в которых обычная одежда, включая обувь, должна быть заменена спецодеждой.

Особое внимание должно быть уделено изоляции помещений для приготовления закваски от помещений для выработки сыров и кисломолочных продуктов, по переработке и хранению сыворотки, в которых происходит основная репродукция бактериофагов. Заквасочные должны быть максимально герметизированы, не иметь прямого выхода в производственные помещения.

14.3.3. Вода

Вода может быть опасным источником обсеменения сыров вредной микрофлорой. Вода, которая может прямо или косвенно контактировать с

продуктом, должна отвечать требованиям ГОСТ 2874 «Вода питьевая, гигиенические требования и контроль качества». Она должна быть безопасной в эпидемическом отношении, безвредной по химическому составу и приятной по органолептическим показателям. В соответствии с ГОСТ общее содержание микроорганизмов в питьевой воде должно быть не более 100 $мл^{-1}$, содержание БГКП – не более 3 $л^{-1}$. Кроме бактериологических показателей, в питьевой воде нормируется содержание тяжелых металлов, нитратов, которые могут представлять опасность для здоровья, и некоторые другие показатели (pH, содержание сульфатов, полифосфатов и др.), влияющие на ее органолептику. Следует иметь в виду, что химический состав воды может оказать прямое влияние на органолептические показатели сыров: например, при высоком содержании в воде железа на поверхности сыра могут образовываться черные пятна, связанные с образованием сероводорода поверхностной микрофлорой. От качества воды для приготовления растворов энзимных препаратов зависит их активность.

Анализы воды по стандартным методикам проводят органы госсанэпиднадзора: химические – не реже одного раза в квартал, микробиологические – раз в неделю.

Предпочтительным источником питьевой воды является центральный водопровод. При его отсутствии по разрешению госсанэпиднадзора используются автономные источники, например, артезианские скважины, вода из которых удовлетворяет требованиям ГОСТ. При отсутствии таких источников допускается использование воды из открытых водоемов с соответствующей обработкой непосредственно на предприятии. Автоматическая дозировка реагентов для обработки воды предпочтительнее ручной, поскольку в этом случае легче поддерживать остаточные их количества в воде на допустимом уровне. Особое внимание нужно обращать на остаточное содержание хлора в хлорированной воде при ее внесении непосредственно в продукт, например, при разбавлении сыворотки водой или в качестве ингредиента при приготовлении восстановленных продуктов.

Для технических целей (охлаждения, противопожарных целей, ухода за территорией, получения пара) можно использовать воду более низкого качества, которая дешевле, чем питьевая. Она подается по отдельному водопроводу, водопроводы для питьевой и технической воды нужно окрашивать в разные цвета, а в точках водоразбора оформляются соответствующие указатели. Недопустимо попадание технической воды в питьевую.

Для нормальной работы предприятие должно иметь достаточное количество холодной и горячей воды. Для бесперебойного водоснабжения на заводе должно быть не менее двух закрытых резервуаров-накопителей, вода в которых хлорируется. Холодная вода хранится при температуре не выше 20° С [869]. Резервуары моются и дезинфицируются не реже одного раза в год, а при каких-либо сомнениях в качестве воды – намного чаще. Помещения для резервуаров должны быть недоступны для грызунов и птиц.

В соответствии с рекомендациями ММФ возвратная вода (из выпаривателей, системы безразборной мойки, конденсата) может быть использована при мойке для первичного, но не конечного ополаскивания; она должна храниться при температурах выше 70° С или ниже 20° С и хлорироваться до содержания свободного хлора в начале хранения 2 мг/л [869]. Ввод возвратной воды в резервуары для хранения должен располагаться в нижней, выход – в верхней части резервуара.

Источники водоснабжения и места водозабора защищаются санитарной зоной. Особое внимание уделяется предупреждению загрязнения источников поверхностными водами весной.

Горячая вода должна иметь температуру не ниже 70° С, а при использовании для дезинфекции – не ниже 82° С [869]. Должны приниматься меры по предупреждению накипи в бойлерах.

14.3.4. Рассол

Многие микроорганизмы не только выживают, но и активно размножаются в рассоле и оказывают негативное влияние на внешний вид и другие показатели сыра. Salomskene нашла тесную обратную корреляцию между содержанием в рассоле протеолитических, психротрофных бактерий, дрожжей и плесневых грибов, с одной стороны, и качеством твердых сыров, с другой [921]. На основании ее исследований в Литве установлены следующие микробиологические показатели для рассола (КОЕ/см^3): общее количество бактерий – не выше $20 \cdot 10^3$; БГКП – не более 50; протеолиты – не более 10^3; дрожжи – не более 10^2 [921]. Следует отметить, что это очень жесткие нормативы, но в них укладывается до 70% литовских предприятий.

14.3.5. Пар

Сыродельный завод может нормально функционировать только при полном обеспечении паром. Пар, вступающий в контакт с продуктом, должен вырабатываться из питьевой воды и не содержать реагентов, применяемых при приготовлении горячей воды в бойлерах.

14.3.6. Холод

Предприятие должно быть обеспечено достаточным для выполнения технологических операций количеством холода (для охлаждения молока, поступающего на хранение до температуры 4° С, охлаждения молока после тепловой обработки, поддержания требуемой температуры в камерах для созревания, в помещениях для хранения готовой продукции и т. д.).

14.3.7. Удаление сточных вод, отходов производства, канализация

Пропускная способность системы удаления сточных вод должна быть рассчитана на пиковую нагрузку и устроена так, чтобы исключить

возможность загрязнения воды и продукта. Канализационная система должна быть герметичной и оснащена затворами, которые должны регулярно проверяться, для того чтобы не допустить их обсушки, и решетками.

Главный коллектор должен быть расположен на значительно более низком уровне, чем производственные помещения, чтобы исключить возможность обратного потока сточных вод. Стоки из помещений для обработки сырого молока, лабораторий, бытовых помещений, внешние стоки не должны проходить через производственные помещения. Стоки с охладительных установок, установок для кондиционирования воздуха, конденсат пара должны поступать по закрытой системе непосредственно в канализацию, а не выливаться на пол. Ливневая канализация должна быть достаточной для удаления дождевой влаги в пиковых ситуациях. Недопустим выход сточных вод из канализационных люков.

Сухие отходы хранятся в закрытых контейнерах, недоступных для проникновения вредителей; контейнеры должны освобождаться от отходов не реже одного раза в сутки. После разгрузки они моются и дезинфицируются. Особое внимание следует уделять отходам микробиологических лабораторий, которые могут быть загрязнены самой разнообразной микрофлорой. Желательно, чтобы контейнеры для мусора и отходов размещались в отдельных помещениях, физически изолированных от зон повышенного риска.

14.3.8. Вентиляция, кондиционирование воздуха

Вентиляция должна способствовать созданию нормальных условий как для персонала, так и для технологического процесса и качества конечного продукта. Она должна быть так устроена, чтобы исключить или свести до минимума загрязнение продукта через воздух.

Молочные предприятия в настоящее время оснащаются системами вентиляции, нагревания и кондиционирования воздуха, которые должны предотвратить образование конденсата, понизить влажность воздуха, и тем самым уменьшить опасность развития бактерий и плесневых грибов, загрязненность воздуха. Она должна обеспечить полную обсушку производственных помещений и оборудования после мойки и дезинфекции, по крайней мере один раз в сутки [869]. Система должна периодически очищаться и дезинфицироваться: особое внимание при этом нужно обращать на вентиляторы, поддоны для сбора конденсата и осушители воздуха.

Входы в систему должны располагаться на один метр выше пола или другой поверхности, на которой может скапливаться пыль и грязь, чтобы не засасывать их в систему. Воздух, подаваемый в зоны наивысшего риска (помещения для выработки сыра, приготовления закваски, камеры для созревания), должен пропускаться через фильтры, задерживающие механические загрязнения и конденсат. Для заквасочных целесообразно иметь автономную систему приточной вентиляции со стерилизацией подаваемого воздуха. Отдельная система вентиляции жела-

тельна и для лабораторий, особенно микробиологической, с тем чтобы не загрязнять воздух производственных помещений микрофлорой, бактериофагами, химикалиями.

Воздушные фильтры должны содержаться в чистоте и периодически обновляться. В зонах повышенного риска необходимо поддерживать избыточное давление. Рекомендуются раздельные вентиляционные системы для помещений, в которых обрабатывается сырье и вырабатывается сыр, для того чтобы воздух из сырьевых зон не попадал в зоны повышенного риска. При общей системе вентиляции воздушный поток должен быть направлен из производственных в сырьевые зоны, а не наоборот. Все входы и выходы в вентиляционных системах должны иметь устройства (экраны, решетки, ловушки), исключающие попадание в систему птиц и грызунов.

14.3.9. Санитарные устройства

Персонал, контактирующий прямо или косвенно с продуктом, является наиболее вероятным источником послепастеризационного загрязнения продукта ПО. С целью предупреждения такого загрязнения на предприятиях должны быть созданы все условия для соблюдения личной гигиены.

На предприятии должны быть в достаточном количестве устройства для мойки и санитарной обработки рук с моющими и дезинфицирующими средствами, щетками для чистки ногтей, стенки около умывальников должны быть облицованы плиткой без трещин и выбоин.

В каждом производственном помещении должен быть один главный вход для персонала и посетителей; непосредственно у входа должны быть умывальники, для того чтобы каждый входящий мог вымыть руки при входе. Для обсушки рук после мойки наиболее пригодны бумажные полотенца одноразового использования, так как при использовании воздушных осушителей может загрязняться воздух.

При наличии при входе дезинфицирующих ванн для ног необходимо следить за концентрацией в них дезинфицирующих средств, поддерживая ее на требуемом уровне.

Туалеты должны хорошо освещаться, вентилироваться и обогреваться. Они не должны иметь прямого выхода в производственные помещения. При входе в туалет обязательно должны быть устройства для мойки и дезинфекции рук. Спускные клапаны в туалетах должны быть ножного действия; желательно иметь в умывальниках краны, функционирующие без помощи рук. На выходе из туалета должно быть напоминание персоналу о необходимости мойки рук. Необходимо строго следить за чистотой в туалетах: по мере необходимости, но не реже одного раза в смену, их очищают, промывают водой из шланга и дезинфицируют. Писсуары и унитазы очищают от налета солей 10 %-ной соляной кислотой, после чего промывают водой и дезинфицируют [921]. Инвентарь для уборки туалетов нельзя использовать для других целей.

На предприятии должны быть помещения для переодевания, хранения и сушки спецодежды, а также прачечные для стирки спецодежды.

В аптечках скорой помощи должно быть все необходимое для обработки и дезинфекции ран, водонепроницаемые пластыри для предотвращения контакта кожных повреждений с продуктом, резиновые перчатки, напальчники.

14.3.10. Оборудование и инвентарь

Оборудование должно быть расположено так, чтобы его было удобно обслуживать и очищать. Оборудование и инвентарь, помимо правильного выполнения основных функций, должно отвечать следующим требованиям:

- иметь устройства, желательно автоматического действия, для поддержания и контроля установленных параметров производственного процесса (температуры, кислотности, продолжительности и др.);
- не иметь конструктивных недостатков, вызывающих ухудшение гигиенических показателей продукта, в частности не иметь так называемых «мертвых концов» – тупиков, которые плохо поддаются мойке и дезинфекции и в которых скапливаются остатки продукта и происходит размножение микроорганизмов;
- гарантировать отсутствие загрязнения продукта после тепловой обработки микрофлорой из материалов и сырья, еще не подвергнутых тепловой обработке;
- быть легко доступным для мойки и дезинфекции, визуальной проверки чистоты поверхностей, контактирующих с продуктом; поверхности должны быстро высыхать после мойки;
- легко разбираться при необходимости ручной мойки и дезинфекции;
- иметь устройства для отбора проб продукта для анализов;
- не собирать грязь и бактерии на внешних поверхностях.

На предприятии должна быть схема всех трубопроводов с указанием их назначения. Пластиковые и стеклянные контейнеры не должны использоваться при наличии риска загрязнения продукта материалом, из которого изготовлен контейнер, в том числе осколками стекла.

Стеклянная посуда не должна храниться в помещениях для выработки продукции.

Все поверхности, контактирующие с продуктом, должны быть гладкими, непористыми, без углублений и трещин. Материалы, из которых изготовлено оборудование, не должны влиять на продукт и сами не подвергаться воздействию продукта, быть резистентными к принятой процедуре мойки и дезинфекции. Дерево и другие материалы, плохо поддающиеся мойке и дезинфекции, не следует использовать для изготовления инвентаря.

Оборудование и инвентарь, используемые для работы с непищевыми материалами или для санитарной обработки, должны быть про-

маркированы. Передвижное оборудование и инвентарь должны использоваться только в закрепленном за ними секторе, для того чтобы избежать перекрестного обсеменения продукта микроорганизмами.

14.3.11. Мойка и дезинфекция

Очистка – удаление остатков пищи, грязи, жиров с очищаемых поверхностей; дезинфекция – возможно более полное уничтожение микроорганизмов с целью предотвращения загрязнения продукта микрофлорой до опасного уровня способами, не наносящими вреда продукту. Очистка предшествует или совпадает по времени с дезинфекцией, поскольку грязь защищает микроорганизмы от дезинфицирующих веществ; более того, на плохо вымытых поверхностях быстро формируются сообщества микроорганизмов (биопленки), обладающие высокой устойчивостью к дезинфектантам [152].

Очистка совершается в три стадии:

- предварительное ополаскивание для удаления наиболее крупных загрязняющих частиц холодной или подогретой (40–50° С) водой, а с поверхностей, загрязненных липидами, – водой, нагретой до 80–82° С;
- мойка растворами моющих веществ с температурой, которая зависит от очищаемого объекта и типа моющего средства;
- ополаскивание питьевой водой (один или несколько раз) для полного удаления загрязняющих веществ и моющих средств.

Дезинфекция может быть осуществлена [353, 1280, 1428]:

- пропариванием текучим паром в течение 10–15 мин, когда температура выходящего конденсата достигнет 82–85 °С;
- горячей умягченной водой с температурой 80° С, циркулирующей в течение 20 мин, или с температурой 85° С, циркулирующей в течение 15 мин;
- раствором химических дезинфектантов, температура и продолжительность обработки которыми зависит от их типа;
- растворами комбинированного состава, содержащими моющие и дезинфицирующие вещества, в соответствии с инструкцией по их применению.

На предприятии должна быть разработана общая программа мойки и дезинфекции, для каждого объекта должна быть составлена инструкция по мойке и дезинфекции, в которой определяются места, подлежащие мойке, методы мойки и дезинфекции, типы моющих и дезинфицирующих средств и периодичность обработки. Инструкции должны быть отпечатаны и вывешены на видном месте вблизи обрабатываемых объектов.

Выбор способа мойки зависит от того, какая очистка приемлема для данного объекта: мокрая или сухая. Мокрая очистка обычно проводится ежедневно в конце работы и в промежутках между выработками. Вода способствует распространению микроорганизмов, и при мокрой очистке необходимо не допускать застоя воды и образования аэрозолей.

При мокрой очистке рекомендуется:

- избегать расхода слишком большого количества воды, использовать проточную воду с помощью шлангов только в необходимых случаях;
- при возможности применять смешанную – мокрую и вакуумную очистку полов и других поверхностей;
- уборочный инвентарь (щетки, швабры, резиновые терки), который является потенциальным переносчиком микроорганизмов, после уборки вымыть и продезинфицировать;
- стены, окна, выступы, вспомогательное оборудование подвергнуть санитарной обработке.

Сухие поверхности могут очищаться ежедневно или реже в зависимости от обстоятельств. Основным переносчиком патогенной и технически вредной микрофлоры по воздуху является пыль, поэтому уровень запыленности производственной зоны должен быть сведен до возможно более низкого уровня. С этой целью следует:

- уменьшить запыленность воздуха, убирая пыль с сухих поверхностей вакуумированием, а не подметанием;
- не удалять пыль с поверхностей сжатым воздухом;
- выступы, приподнятые над полом устройства, на которых может оседать пыль, включить в общезаводскую программу очистки и дезинфекции.

На предприятии должно быть достаточное количество пара, горячей и холодной воды, моющих и дезинфицирующих веществ, уборочного инвентаря для очистки и дезинфекции помещений, оборудования, инвентаря, территории. Циркуляционная система мойки и дезинфекции должна учитывать конкретные особенности предприятия. Для обеспечения эффективной работы циркуляционной системы необходимо строго соблюдать концентрацию моющих и дезинфицирующих веществ, температуру, которую следует замерять в конце циркулирования, скорость и давление потока, продолжительность циркуляции. Идеальным является автоматическое отключение системы при отклонении какого-либо параметра от задаваемого уровня.

Молокоцистерны моют ежедневно. После или в течение каждой мойки их обязательно дезинфицируют комбинированным моюще-дезинфицирующим средством, раствором гипохлорита или паром.

Циркуляционная система мойки танков для хранения молока не должна быть связана с системой мойки оборудования для выработки сыров. При этом необходимо обеспечивать достаточное количество форсунок, их защиту с помощью фильтров, правильную расстановку, исключающую наличие поверхностей, не подвергаемых действию моющих растворов. Исправность форсунок, чистоту их отверстий проверяют не реже одного раза в месяц.

Танки и другие контейнеры для хранения или созревания молока должны проходить санитарную обработку после каждого опорожнения, чтобы не создавать условий для развития психротрофов. При циркуляционной мойке краны и крышки люков моют вручную. Еженедельно проверяют отсутствие течи в местах соединений мешалок и их чистоту. При отсутствии циркуляционной мойки танков их ручная мойка должна включать следующие операции:

- проверка полноты освобождения танка;
- удаление остатков молока холодной водой;
- демонтаж всех снимаемых частей и отдельная их мойка;
- обработка с помощью щеток поверхностей танка теплым (40–50° С) раствором моющего или моюще-дезинфицирующего средства, разрешенного для ручного применения;
- ополаскивание холодной питьевой водой и установка на место всех демонтированных в начале мойки частей;
- дезинфекция, если она не совмещалась с мойкой.

Дезинфекцию танков проводят текучим паром в течение не менее 15 мин, пока температура конденсата не достигнет 82° С, или раствором гипохлорита, содержащим 200 мг/л активного хлора, в течение 5 мин. После дезинфекции танки снова ополаскивают холодной питьевой водой.

Мойку и дезинфекцию сырных ванн, сыроизготовителей, формовочных аппаратов, отделителей сыворотки, инвентаря необходимо проводить после каждой выработки, для того чтобы не загрязнять молоко и сыр в последующих выработках микрофлорой и бактериофагами, размножившимися во время предыдущей выработки. Сырные ванны и сыроизготовители в промежутках между выработками при их неоднократном использовании в течение суток дезинфицируют пропусканием пара через рубашку в течение 5 мин. Заквасочники следует мыть и дезинфицировать после каждого освобождения. Если после дезинфекции оборудования и инвентаря до начала их нового функционирования проходит более 6 ч, то перед началом работы их снова необходимо продезинфицировать, например, пропариванием.

Мойку и дезинфекцию солильных бассейнов проводят после каждой смены рассола, а также при его неудовлетворительном качестве.

Все молокопроводы и клапаны моются в конце рабочего дня. Молокопроводы для сырого и прошедшего тепловую обработку молока и других материалов (например, смеси зерна с сывороткой) обрабатывают разными циркуляционными системами. Все трехходовые клапаны в конце циркуляции моющих растворов демонтируют, моют и дезинфицируют вручную обычным порядком. Эффективность дезинфекции трубопроводов и клапанов можно проверить путем микробиологического анализа транспортируемого продукта при поступлении и выходе его из трубопровода или разборки какого-либо участка трубопровода и анализа смывов. Такая проверка проводится не реже одного раза в пять дней.

При неудовлетворительных результатах анализа нужно выявить и устранить причины неэффективности дезинфекции. Периодически трубопроводы следует мыть вручную с помощью ершей.

Датчики температуры, давления и другие устройства, выступающие на пути потока моющих и дезинфицирующих веществ при циркуляционной мойке, должны так располагаться, чтобы быть препятствиями для потока и не образовывать «мертвых концов», недоступных или плохо доступных для мойки.

Шланги для сырья и продукции должны иметь маркировку (быть окрашены в разные цвета) с тем чтобы предупредить их использование не по назначению, например, для технической воды. Недопустимо оставлять шланги во время перерывов в работе и во время работы на полу. Их следует хранить в специально отведенном месте с защищенным от контакта с внешней средой концом, соприкасающимся с продуктом. Должно быть предусмотрено все необходимое для ручной мойки клапанов, кранов, насосов и других труднодоступных для очистки и дезинфекции объектов, пластин пастеризационных установок, а также оборудования и инвентаря, которые нельзя обработать при помощи циркуляционной системы. Не использовать для очистки оборудования металлические щетки. Щетки, ерши и швабры должны быть вычищены и продезинфицированы после окончания работы и помещены в отведенное для них место. Недопустимо использовать для мойки танков и ванн щетки и швабры, предназначенные для уборки помещения, один и тот же инвентарь для уборки сырьевой и производственной зон.

При мойке и дезинфекции фляг для доставки молока следует обращать внимание на обработку не только внутренней поверхности, но также крышек и прокладок.

Контейнеры для мусора и отходов производства после разгрузки дезинфицируют хлорными растворами, содержащими не менее 200 мг/л активного хлора [1428]. Их дезинфицируют до возвращения на производство.

После работы должны быть тщательно вымыты полы, канализационные люки, двери и стены производственной зоны. При мойке помещений, оборудования нужно следить, чтобы не было загрязнения продукта моющими и дезинфицирующими веществами; аэрозольная обработка допустима только при отсутствии в помещении продуктов и при ополаскивании после такой обработки всех поверхностей, контактирующих с продуктом во время выработки или расфасовки. По этой же причине для мойки и дезинфекции нельзя использовать воду под высоким давлением. Недостаточная или нерегулярная мойка и дезинфекция стимулирует образование биопленок, снижающих эффективность последующих санитарных обработок [152].

14.3.12. Сырье

Сырье является важнейшим источником загрязнения сыров посторонними веществами и микроорганизмами. По возможности молоко,

молокосвертывающие энзимы, бактериальные препараты должны быть сертифицированы.

Молоко

Гигиенические требования к молоку изложены в гл. 7. Следует только подчеркнуть, что с точки зрения гигиены главными требованиями к молоку в сыроделии является получение его от здоровых животных и отсутствие в нем ингибиторов бактериального роста.

Абсолютное большинство сыров в России вырабатывают из пастеризованного молока. Пастеризация должна уничтожать патогенные микроорганизмы в такой степени, чтобы после нее молоко не могло причинить вред здоровью потребителя. Минимальный режим пастеризации, обеспечивающий достижение этой цели – 72° С с выдержкой 15 с [65]. В табл. 14.2 показано влияние тепловой обработки на некоторых возбудителей заболеваний, передающихся через пищу [65]. Они свидетельствуют об уничтожении большей части патогенных бактерий принятой в сыроделии пастеризацией молока (72–75° С, 15–25 с). Но часть клеток патогенных бактерий, количество которых зависит от их содержания в сыром молоке, выдерживает пастеризацию. Большинство патогенных бактерий может размножаться в сырах, пока не сброжены все углеводы. Таким образом, в производстве твердых сыров пастеризация молока не полностью решает стоящую перед ней задачу. Подробно это рассмотрено в гл. 6. Однако пастеризация молока – центральное звено, обеспечивающее безопасность сыра.

***14.2. Д-значения[1] для некоторых патогенных бактерий при различных температурах* [65, 254]**

Организмы	Температура, °С	Д-значения	
		мин.	макс.
Brucella abortus	71	0,08	0,17
Listeria monocytogenes	71,7	0,02	0,07
Mycobacterium tuberculosis	71,5	0,02	0,03
Staph. aureus	65,6	0,23	0,29
Salmonella	71,7	0,02	0,02
Yersinia enterocolitica	62,8	0,24	0,96

[1] Продолжительность выдержки в минутах при данной температуре, необходимой для уничтожения 90% клеток.

Пастеризация молока играет важную роль в предотвращении микробиологической порчи сыра, поскольку посторонняя микрофлора размножается в сырах во время созревания. К сожалению, ужесточить режим пастеризации в производстве твердых сыров пока нельзя, поскольку это ухудшает технологические свойства молока.

Другие ингредиенты и пищевые добавки

В производстве твердых сычужных сыров практически не применяются какие-либо ингредиенты немолочного происхождения. В плавленых и мягких сырах используют широкий спектр пищевых добавок.

Ингредиентами молочного происхождения являются обезжиренное молоко, сливки, белково-жировые концентраты, пахта. Следует отметить, что вносимые в продукт ингредиенты могут быть не только источником загрязнения микрофлорой, но и превратить его в среду для размножения посторонней микрофлоры. Так, внесение в смесь для производства плавленых сыров углеводосодержащего сырья резко увеличивает спектр потенциальных возбудителей порчи плавленого сыра.

Более широк круг пищевых добавок. Под пищевыми добавками понимают природные или синтезированные вещества, вводимые в продукты с целью придания им определенных органолептических свойств (вкусовые наполнители, ароматизаторы, красители, поваренная соль и т. д.), для повышения стойкости в хранении (низин, дельвоцид, натамицин, сорбиновая кислота и др.) и в технологических целях (молокосвертывающие ферменты, хлористый кальций, фосфаты, бактериальные препараты и т. д.).

На применение любого ингредиента и пищевой добавки должно быть разрешение органов здравоохранения; все разрешенные ингредиенты и пищевые добавки должны быть внесены в нормативно-техническую документацию на продукт. Сыродельное предприятие должно обеспечить контроль качества всех ингредиентов и добавок.

Ингредиенты и пищевые добавки должны храниться до использования в условиях, гарантирующих сохранение их качества, в частности, препятствующих размножению в них микрофлоры или снижению активности. При этом добавки непищевого происхождения необходимо хранить отдельно от пищевых продуктов.

Сырье перед добавлением в продукт должно проходить установленную обработку, исключающую или максимально возможно снижающую опасность заражения через него конечного продукта ТВО и ПО.

Упаковочные материалы

Твердые сыры обладают сравнительно высокой стойкостью в хранении при температуре от 0 до минус 4° С в том случае, если они защищены от контакта с воздухом, точнее, от содержащегося в воздухе кислорода, и от потери влаги. Защита возлагается на специальные материалы, которыми покрывают головки сыра.

Основные требования к покрытиям:

- покрытия не должны оказывать вредного воздействия на сыр: не содержать токсичных веществ, не придавать продукту посторонних привкусов и запахов, быть достаточно прочными и хорошо держаться на сырах;

- покрытия должны быть непроницаемыми для кислорода и водяных паров, но пропускать углекислый газ, образуемый микрофлорой во время выработки и созревания сыра;
- они должны придавать сырам привлекательный внешний вид.

В качестве покрытий используются восковые сплавы, латексы, полимерные пленки. На применение каждого покрытия должно быть разрешение органов здравоохранения. Необходимо строго следовать правилам применения каждого вида покрытия, нарушения правил могут снизить эффективность применения и вызвать пороки сыра (превышение температуры плавления восковых сплавов, например, может вызвать изменение их цвета и появление запаха нефтепродуктов). Первые три витка упаковочных материалов в рулонах не рекомендуется использовать для упаковки готового продукта из-за возможного их загрязнения во время доставки.

14.3.13. Хранение готового продукта, сырья, материалов

Хранение готового продукта, сырья, материалов должно проводиться в условиях, указанных в нормативно-технической документации, предотвращающих загрязнение объектов химическими веществами и микроорганизмами, размножение микроорганизмов, изменение физико-химических свойств в течение допустимого срока хранения. Главными показателями условий хранения являются температура, влажность, механическая, химическая и бактериологическая чистота воздуха, защищенность от доступа вредителей. Помещения для хранения должны регулярно убираться.

В различных, физически отделенных друг от друга помещениях, должны храниться готовый продукт и сырье, пищевые и непищевые материалы, моющие и дезинфицирующие вещества, упаковочные материалы. Хранить упаковочные материалы нужно так же, как пищевые, обращая особое внимание на предотвращение развития на них плесени. Это достигается, в первую очередь, низкой влажностью складских помещений.

Все контейнеры с готовым продуктом должны быть промаркированы с указанием партии, код партии должен быть четко показан на каждом контейнере, контейнеры штабелируются так, чтобы коды партий были ясно видны. Высота штабеля должна быть такой, чтобы не вызывать деформацию нижних головок. Отгрузку продукта производят в соответствии с датами выработки.

Между штабелями должны быть проходы для свободного доступа к любой партии и циркуляции воздуха. Во время хранения состояние сыров постоянно контролируют, чтобы не допустить отгрузки продукта, не соответствующего требованиям нормативно-технической документации.

Химические вещества должны поступать на хранение в исправной заводской упаковке или таре, с обязательной идентификацией с помощью

этикеток, ярлыков или бирок. На каждой этикетке должно быть указано название вещества и его показатели (концентрация, плотность, чистота и т. д.). Хранить химические вещества без идентификации нельзя.

Хлорную известь и жидкий хлор хранят в отдельных помещениях, расположенных от производственных зданий и жилых помещений на расстоянии не менее 12 метров при одной тонне хранения, не менее 25 м при хранении от одной до двух тонн, не менее 50 м при хранении до 50 т [1428]. Эти соединения должны быть защищены от прямого солнечного света, поэтому хранить их нужно в таре из темного стекла, а окна в хлораторных должны быть закрашены белой краской.

Складские помещения для хлорной извести и хлора должны быть построены из огнестойких материалов с низкой теплопроводностью и иметь два выхода.

Концентрированные кислоты и щелочи нужно хранить отдельно от других веществ. Все химические вещества, которые могут представлять опасность для здоровья, должны храниться под ключом и обращение с ними доверяют только хорошо обученному персоналу. Особенно тщательно нужно следить за тем, чтобы они не попали в сырье и конечный продукт.

14.3.14. Борьба с вредителями

Борьба с вредителями – важный элемент программы по обеспечению надлежащих экологических условий производства сыра. Главными условиями эффективности борьбы с вредителями являются: хранение продуктов и материалов в местах, недоступных для вредителей; ежедневное удаление отходов производства из зданий и с территории предприятия; физические барьеры для проникновения вредителей в производственные помещения; применение физических, химических и биологических способов уничтожения вредителей. Химические и биологические меры борьбы с вредителями должны осуществляться органами госсанэпиднадзора таким образом, чтобы исключить заражение продукта.

14.3.15. Персонал

Персонал может быть источником заражения продукта патогенной и технически вредной микрофлорой. Этот источник – один из самых опасных, так как в этом случае продукт может загрязняться микроорганизмами, способными размножаться в организме человека и находящимися в момент попадания в продукт в физиологически активном состоянии.

Подбор и обучение

Для работы в производственных помещениях необходимо подбирать только аккуратных, чистоплотных людей с высоким чувством ответственности. Особенно это важно в приготовлении заквасок.

На предприятии следует постоянно проводить обучение гигиеническим методам работы с тем, чтобы каждый работник знал, как происходит заражение пищевых продуктов, и что он должен делать для того,

чтобы это не произошло на его участке. Обучение должно охватывать основы бактериологии, пищевые отравления, источники обсеменения продукта вредной микрофлорой, закономерности размножения микрофлоры во время выработки и созревания сыра, личную гигиену, правила очистки и дезинфекции, основы сертификации. Прохождение обучения фиксируется в личном деле каждого работника. Лица, не прошедшие обучение, не допускаются до работы в производственной зоне. Нарушения правил личной гигиены следует рассматривать как грубейшее нарушение дисциплины, и виновники этого должны наказываться морально и материально.

Медицинский контроль

Все поступающие на работу в производственные цеха должны пройти медицинский осмотр. В дальнейшем осмотры проводятся раз в квартал. Результаты осмотров заносятся в санитарные книжки. К контакту с продуктом нельзя допускать лиц с хроническими заболеваниями, особенно кишечными, легочными, кожными, возбудители которых могут передаваться через молоко, сыры и другие продукты, а также бациллоносителей.

Работники с расстройствами кишечника, заболеваниями горла, фурункулами и гнойничковыми заболеваниями должны отстраняться от работы до выздоровления. Необходимо принимать соответствующие меры при возникновении любой опасности заражения продукта патогенной микрофлорой, например, при заболевании членов семьи работника, поездке их в страны, неблагополучные по инфекционным заболеваниям. Работники должны немедленно сообщать руководству о всех повреждениях кожного покрова (порезах, воспалениях, язвах, ожогах), насморке. Повреждения кожи должны заклеиваться водонепроницаемыми пластырями или изолироваться от контакта с продуктом резиновыми напалечниками или перчатками. В более серьезных случаях работника, контактирующего с продукцией, отстраняют от работы.

Расследования заболеваний, вызванных потреблением сыра, показывают, что чаще всего во время выработки такого сыра лица, занятые приготовлением закваски, имели расстройства кишечного тракта, о чем не сообщили руководству и поэтому не были отстранены от работы.

Мойка и дезинфекция рук

Каждый работник в производственной зоне должен часто мыть руки и обязательно их мыть в следующих случаях: перед входом в производственные помещения; после посещения туалета; после пользования носовым платком; после каждого перерыва; после выполнения любой работы, во время которой можно загрязнить руки, например, после посещения других цехов или работы с другим продуктом. Руки следует мыть и дезинфицировать по локоть. При мытье особое внимание следует обращать на чистоту ногтей, которые должны быть коротко острижe-

ны. Дезинфицировать руки можно раствором хлорамина или хлорной извести, содержащими 100 мг/л активного хлора.

Спецодежда

Работа в производственных зонах разрешается только в специальной одежде преимущественно светлых тонов. Эта одежда хранится на предприятии; ее нельзя носить вне производственной зоны. Желательно иметь спецодежду различного цвета для работников в сырьевом отделении и отделениях, где осуществляется выработка готовой продукции. Спецодежда должна включать халаты или куртки и брюки, головные уборы и накидки, обувь. Спецодежда должна быть чистой и хорошо выглаженной. Работники заквасочных должны иметь два вида спецодежды: для работы только в заквасочной и для посещения помещений выработки продукции.

В производственной зоне нельзя носить драгоценности, украшения. Желательно, чтобы на спецодежде не было карманов и пуговиц.

Поведение

В производственных помещениях нельзя принимать пищу и напитки, курить, использовать жевательную резинку. Надпись о запрете на курение должен быть вывешена на видном месте. Для курения нужно отвести места, изолированные от помещений выработки, расфасовки, хранения продукции. В местах для курения должны быть контейнеры для окурков. Курительные принадлежности нельзя вносить в производственные помещения.

Перемещение персонала из сырьевых отделений в производственные и обратно должны быть строго ограничены. Запрещается вход в производственные помещения лицам, в них не работающим, в том числе водителям транспорта, работникам сферы реализации, низовой сети и т. д. В заквасочные разрешается вход только лицам, занятым приготовлением закваски.

14.3.16. Лаборатории

Наличие химической и микробиологической лабораторий, оснащенных необходимым для выполнения требуемых анализов оборудованием и квалифицированными кадрами – необходимое условие для эффективного управления качеством сыра, обеспечения безопасности продукции. Химическая и микробиологическая лаборатории располагаются в разных помещениях.

В лабораториях должны быть составлены и отпечатаны методики проведения каждого анализа, приготовления питательных сред и реактивов, правила обслуживания приборов и оборудования. Методики должны соответствовать действующим стандартам и инструкциям по микробиологическому и техно-химическому контролю [1393, 1394]. Для приготовления питательных сред следует использовать серийно выраба-

тываемые дегидрированные сухие среды, что позволяет получать сопоставимые результаты.

Рекомендуется разрабатывать системы управления производством каждого продукта по типу приведенной в разделе 1 этой главы. Пробы, отобранные для анализа, хранят до получения результатов анализа.

Микробиологические анализы связаны с размножением микрофлоры, поэтому при нарушении гигиенических требований к работе лабораторий они могут стать мощным источником заражения окружающей среды микроорганизмами, в том числе и патогенными. В связи с этим посевы после снятия результатов необходимо автоклавировать, прежде чем выливать в канализацию или выбрасывать в контейнеры для отходов; воздушный поток в вентиляционной системе и сточные воды в канализации должны двигаться в направлении от производственных помещений к лабораторным, а не наоборот; лаборатории не должны иметь прямого выхода в производственные помещения. В заводских лабораториях не рекомендуется вести контроль патогенной микрофлоры, который нужно проводить в лабораториях, расположенных за пределами заводских лабораторий, лицами, не имеющими доступа в производственную зону. Работники лабораторий, так же как заквасочных, должны иметь два комплекта спецодежды: для работы только в лаборатории и для выхода в производственные помещения.

14.4. Заключение

Сыры вырабатывают из нестерильного сырья в контакте с нестерильной внешней средой. Это обусловливает возможность их загрязнения технически вредной и патогенной микрофлорой. В сырах могут размножаться факультативно анаэробные и анаэробные сахаролитические микроорганизмы, а в мягких сырах – и аэробные микроорганизмы. Сахаролитические виды бактерий размножаются в сыре, пока не сброжены все углеводы, после чего они начинают постепенно вымирать. Микроорганизмы, способные получать энергию сбраживанием лактатов, могут размножаться в сырах на всем протяжении созревания. Сыры употребляют в пищу, как правило, без кулинарной обработки.

Безопасность для потребителя сыров обеспечивается пастеризацией молока, развитием молочнокислых бактерий закваски, быстро утилизирующих углеводы и подавляющих или ограничивающих рост вредной микрофлоры.

Необходимое условие выработки сыров, безопасных для здоровья потребителя – высокий уровень гигиены, необходимо поддерживать по всей цепочке: от коровы до реализации продукта. Особое внимание следует уделять управлению процессами в контрольных критических точках, где допущенные нарушения не поддаются или только частично поддаются исправлению на последующих этапах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Abd-El-Lateef El-Tobgui H. Die Lactobazillenflora des Emmentaler Käses. Diss. Technische Univers. Munchen. *Milchwissenschaft,* 1979, №8, 504.
2. Abd-El-Salam M. H. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology».* V. 2. Major Cheese Groups. London etc., 1993, 301–335.
3. Abrahamsen R. K. et al. *Meieriposten,* 1987, №21, 573–579.
4. Abrahamsen R. K. et al. *Prz. Mlecz.,* 1988, №12, 13–16.
5. Abrahamsen R. K., Birkeland Stein E. *Langsrud. Acta Aliment. Pol.,* 1989, 15, №2, 123–131.
6. Accolas J. P. 1981, *IDF,* E-DOC 132.
7. Accolas J. P. *Le Lait,* 1978, №573–574, 118–132.
8. Accolas J. P., Melcion D., Vassal L. *XX Inter. Dairy Congr.,* 1978, Paris, 773–774.
9. Accolas J. P., Spillmann H. J. *J. appl. Bacteriol.,* 1979, 47(1), 135–144.
10. Ackermann H. W., Eisenstark A. *Intervirology,* 1974, v. 3, 201–209.
11. Adda J., Dimont J. P. *Le Lait,* 1974, 54, 1.
12. Ahmed A. A. H., Ahmed S. H. *Assiut Veterinary Medical J.,* 1989, 22(43), 88–94.
13. Akkerman J. C. et al. *Neth. Milk Dairy J.,* 1989, v. 43(4), 453–476.
14. Albert K. A. et al. *J. Dairy Sci.,* 1984, 67 (Suppl. 1), 81.
15. Alfa-Laval Filtration System A/S. Dan. *Dairy Food Ind. Worldwide,* 1992, 8(42), 44.
16. Ali A. E., Andrews A. T., Cheesman G. C. *J. Dairy Res.,* 1980, 47, 371–382.
17. Ali A. E. et al. Posters presented at the XXI Inter. Dairy Congr. *IDF,* 1986, 56.
18. Ali A. E., Andrews A. T., Cheesman G. C. *J. Dairy Res.,* 1980, 47, 393–406.
19. Alkhalaf W., El-Soda M. A. *J. Dairy Sci.,* 1989, 72(9), 2233–2238.
20. Aly M. E. *Nahrung,* 1990, 34(4), 329–335
21. *American Dairy Rev.,* 1979, 41(5), 50B, 50D, 50J.
22. Ammer El-Tahra M. A. *Egypt. J. Dairy Sci.,* 1994, 22(1), 67–80.
23. Amram Y. et al. *DSA,* 1983, 45(5), 306 (2658).
24. Amster H., Jost R. *Experientia,* 1980, 36(6), 764.
25. Andrews A. T. *J. Dairy Res.,* 1983, 50(1), 57–76.
26. Andric M., Sutic M. *Mljekarstvo,* 1980, 30(4), 99–106.
27. Antila P., Antila V. *Meijeritietell.,* 1979, 37, 23–32.
28. Antila V., Antila V., Antila P. *Juuston–Valmistus. Helsinki, Valton painatuskeskus,* 1980, 142.
29. Archibald F. S. et al. *J. Bacteriol.,* 1981, 146(3), 928–936.
30. Ardo Y. et al. *Milchwissenschaft,* 1989, 44, №8, 485–490.
31. Ardo Y., Mansson H. L. *Nordisk Mejerindustri,* 1989, 16(11), 545–546, 548.
32. Argule P. J. et al. *J. appl. Bacteriol.,* 1976, 41(1), 175–184.
33. Aston J. W. et al. *DSA,* 1985, 47(12), 844 (7532).
34. Aston J. W., Creamer L. K. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.,* 1986, 21, 229. Цит. по: [622].

35. Aston J. W., Douglas K. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1983, 38(2), 66.
36. Aston J. W., Durward I. G., Dulley J. R. *Austr. J. Dairy Technol.*, 1983, 38(2), 55–58.
37. Aubeli P. et al. *Microbiologie, Aliments, Nutrition,*, 1984, 2(1), 29–84.
38. Babella G. et al. *XX Inter. Dairy Congr.*, 1978, 40(9), 519.
39. Bachmann H. P., Spahr U. *J. Dairy Sci.*, 1995, 78(3), 476–483.
40. Badings H. T., Dum H. van. *J. Dairy Sci.*, 1968, 51(1), 31–35.
41. Baer A. *Le Lait*, 1995, 75(4/5), 391–400.
42. Bailly E. *Revue Laitiere Francaise*, 1983, №422, 15–18, 20–21, 39.
43. Bal dit Sollier et al. *Tromb. Res.*, 1996, 81, 427–437.
44. Balaian V. et al. *Indian J. Dairy Sci.*, 1980, 33(3), 390–392.
45. Banks J. M. *J. Soc. Dairy Technol.*, 1988, 41(2), 37–46.
46. Banks J. M., Banks W., Murr D. D., Wilson A. G. *Dairy Ind. Inter.*, 1981, 46(5), 15–22.
47. Barbano D. M., Rasmussen R. R. *J. Dairy Sci.*, 1992, 75, 1–12.
48. Barlow I. et al. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1989, 44(1), 7–18.
49. Barraquio V. L., Reyes C. A., Dulay T. A. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1982, 37(3), 118–120.
50. Bars D. le, Gripon J.-C. *J. Dairy Res.*, 1981, 48, 479.
51. Bars J. le et al. *Microbiologie, Aliments, Nutrition*, 1988, 6, 337.
52. Bartels H. J. et al. *J. Dairy Sci.*, 1985, 68, Suppl. 1, 69.
53. Bartels H. J. et al. *Milchwissenschaft*, 1987, 42(2), 83–88.
54. Bassit N. et al. *J. Dairy Res.*, 1995, 62(1), 123–129.
55. Batish V. K., Grover S., Ranganathan B. *J. Food Sci. Technol., (Mysore)*, 1990, 27(2), 97–101.
56. Batish V. K., Ranganathan B. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1984, 19(3), 189–196.
57. Battistotti B., Corradini C. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology»*. V. 2. London etc., Chapman, Hall, 1993, 221–244.
58. Battistotti et al. *DSA*, 1987, 49(9), 668.
59. Beaquesne D. et al. *Revue Laitiere Francaise*, 1982, №407, 19–23.
60. Becker H., Terplan G. J. *Veterinary Medicine*,1986, 33(1), 1–80.
61. Becker W. von. *Arch. f. Lebensmittel Hygiene*, 1976, 27(5), 181–185.
62. Beckers H. J. et al. *Int. J. Food Microbiol.*, 1987, 4(3), 249–256.
63. Bednarski W. et al. *J. Dairy Sci.*, 1989, 72, Suppl. 1, 147.
64. Behaviour of Pathogenes in Cheese, *IDF*, Bull., 1980, Doc 122, 23.
65. Behaviour of pathogenic bacteria in cheese. *IDF-F40*, F-Doc 223, 1993.
66. Belle M. van, Vervack W., Foulon M. *Le Lait*, 1978, 58, 276.
67. Bennett R. W., Berry M. R. *Irish J. Food Sci.*, 1987, 52(2), 412–416.
68. Berdague J. L. et al. *Le Lait*, 1987, 67(2), 249–263.
69. Berg G. et al. *DSA*, 1988, 50(4), 210, (1987).
70. Berg G. et al. *North. Europ. Food Dairy J.*, 1990, 55(3), 63–68.
71. Berg G. van den, *IDF*, Oslo, 1983.
72. Berg G. van den, Vries E. de, Stadhouders J. *Voedingamiddelentechnologie*, 1986, 19(7), 33–39.

73. Berg M. G. van den. *IDF*, Bull. №229, 1988, 12.
74. Bergere J. L. et al. *Le Lait*, 1978, 58(575–576), 215.
75. Bergere J. L. *Le Lait*, 1968, 48(1), 1–30.
76. Bergere J. L., Bars D. le, Vassal L. *Le Lait*, 1969, 267, 463–468.
77. Berridge N. J. *Nature, Lond.*, 1942, 149, 194.
78. Best M. et al. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1990, 56(2), 377–380.
79. Bester B. H. *South African J. Dairy Technol.*, 1976, 8(1), 51–55.
80. Beynum D. G., Olson N. F. *J. Dairy Sci.* 1982, 65(12), 2281–2290.
81. Beynum J. van, Pette J. W. *Zbl. Bact.*, 1935, 11, 93, 198–212.
82. Bhat U. A., Bennett F.W. *J. Dairy Sci.*, 1964, 47(5,6), 666.
83. Bhowmik T. et al. *Milchwissenschaft*, 1990, №4, 230–235.
84. Bianchi-Salvadori B. *Latte*. Riv. tecn. ind. lattiero-casearia, 1977, 2(1), 18–20.
85. Bianchi-Salvadori B. *Sci. Tech. Latt. cas.* 1985, 36, 411–449.
86. Biaser M. J., Newman L. S. *Rev. Infect. Dis.*, 1982, №4, 1096–1106.
87. Bibal Berhard et al. *Appl. Microbiology Biotechnol.*, 1988, 28, 4–5, 340–344.
88. Bibi W. et al. *Milchwissenschaft*, 1990, №1, 26–28.
89. Biede S. L. et al. *J. Dairy Sci.*, 1977, 60(1), 123–125.
90. Biede S. L., Reinbold G. W., Hammond E. G. *J. Dairy Sci.*, 1976, 59(5), 854–858.
91. Biermann M. *Informationen fuer die Milchindustrie der DDR*, 1988, №30, 58–63.
92. Bills D. D. et al. *J. Dairy Sci.*, 1969, 52, 1340–1345.
93. Binder E., Brandl E. *Osterr. Milchwirtsch., Wiss. Beilage 1*, 1984, 39, 1.
94. Bines V. E., Young P., Law B. *J. Dairy Res.*, 1989, 56(4), 657–664.
95. *Biotechnol. News*, 1988, №20, 3.
96. Birkkjaer N. E., Forsingdal K. et al. *Beretning, Statens Fosogsmejeri*, 1982, №250.
97. Block S. S. *Appl. Microbiol.*, 1953, 1(6), 287–293.
98. Bochtier K. *North European Dairy J.* 1982, №3, 127–135.
99. Boer E. de et al. *Int. J. Food. Microbiol.*, 1986, 3(4), 217–224.
100. Bolsen K. *Feedstuffs*, 1988, 60(33), 19, 20, 29, 30.
101. Bolstridge M. C., Roth G. *South African J. Dairy Technol*, 1985, 17(3), 91–95.
102. Boneberger W. et al. *DSA*, 1990, 52(10), 849.
103. Bosset J. O. et al. I, II, III, IV *FAM-Inform.*, 1994, Mars/280 W.
104. Bottazzi V. *Scienza Technica Lattiero-Casearia*, 1981, 32(6), 418–430.
105. Bottazzi V., Dellaglio F. *J. Dairy Res.*, 1967, 34, 109.
106. Bottazzi V. *Aggiornamento di Microbiologia dei Batteri Lattici*. Milano, Centro Sperimentale del Latte, 1987, 372.
107. Bottazzi V. *DSA*, 1982, 44(8), 583.
108. Bottazzi V. et al. *DSA*, 1985, 47(6), 397.
109. Bottazzi V. et al. *DSA*, 1988, 50(10), 651.
110. Bottazzi V. et al. *XX Inter. Dairy Congr.*, v. E, 1978, 530–531.
111. Bouaval P., Corre C., Dupus C., Roussel E. *Le Lait*, 1995, 75(1), 17–29.

112. Boundreaux D. P. et al. 1988, *US Patent,* 4 728 516. 313.312.
113. Boven A. *Biochimie*, 1988, 70(4), 535–542.
114. Boven A. van, Konings W. N. *Appl. Environ. Microbiol.,* 1987, 53(12), 2897–2902.
115. Bradley D. E. *Bacteriol. Rev.,* 1967, 31, 230–314.
116. Bradley S. R. et al. *J. Infec. Diseases*, 1977, 133, 313–317.
117. Bradshaw J. G. et al. *J. Food Protection,* 1985, 48, 743–745.
118. Brandl E. *Le Lait,* 1976, 56(557), 397–406.
119. Brandt M. J. et al. *J. Food Protection,* 1982, 45(2), 132–134.
120. Branen A. L., Keenan T. W. *Appl. Microbiol.,* 1969, 17(2), 280–285.
121. Breer C., Schopeer K. *DSA*, 1990, 52(6), 487.
122. Breheny S. et al. *Aust. J. Dairy Technol.,* 1975, 30(4), 145–148.
123. Brenner D. J. In: *«The Prokaryotes»*. Berlin etc., Springer-Verlag, 1981, v. 2, 1105–1127.
124. Bringe N. A., Kinsella J. E. *J. Dairy Res.,* 1986, 53, 371.
125. Broome M. C. et al. *Aust. J. Dairy Technol.,* 1990, 45(2), 67–73.
126. Brouwer J. *DSA,* 1983, 45(4), 268.
127. Brunner R. C. *Dairy Sci.,* 1981, 64(6), 1038–1054.
128. Brussow H. et al. *Microbiol.*, 1994, 60(12), 4537–4543.
129. Buchmann H. P. *DSA*, 1996, 58(4), 2606.
130. Budde-Niektel A. et al. *Milchwissenschaft,* 1987, №9, 551–554.
131. Bunning K. Y. et al. *Appl. Environ. Microbiol.,* 1988, 54(2), 364–370.
132. Burkhalter G. *Catalogue of Cheeses. IDF,* Doc. 141, 1981, 8.
133. Bush-Johaunsen G. *Milchwissenschaft,* 1972, 23(4), 102–104; 106.
134. Busta F. F. *J. Milk Food Technol.,* 1976, 39, 138–145.
135. Barth C. et al. *Kiel. Milchwirtschaft. Forschungsber.,* 1989, 41(2), 105–136.
136. Cabezas L. et al. *DSA*, 1995, 57(3), 1319.
137. Cabezas L. et al. *Food Chemistry*, 1988, 30(1), 59–66.
138. Caboni M. F. et al. *Sci. Tecn. Latt.-Casearia*, 1990, 41(3), Suppl., 289–297.
139. Cabrini A. et al. *Latte*, 1983, 8(2), 90–93.
140. Calianan T., Lewis K. *DSA*, 1986, 48(12), 875, (7517).
141. Calvo Marta M. et al. *J. Agric. Food Chem.,* 1995, 43, №.11, 2823–2827.
142. Camaschella P. et al. *Ind. Latte,* 1988, 24(2), 155
143. Cantoni C. et al. *Ind. Alim.,* 1988, 27, №263, 729–730.
144. Carcano et al. *Le Lait,* 1995, 75 (4/50), 415–426.
145. Carini A. et al. *DSA*, 1995, 57(6), 3825.
146. Carini A. et al. *Latte*, 1983, 8(2), 90–93.
147. Carini A. et al. *Scienza Techn. Latt. casear.,* 1971, 22(5), 335–348.
148. Carini S. Batteri Lattii Nella Maturazione del Formaggi Italian. *DSA*, 1986, 48(1), 43.
149. Carini S. et al. *DSA*, 1995, 57(6), 3825.
150. Carminati D. et al. *Latte*, 1985, 10(3), 199–194.
151. Carminati D., Giraffa G., Bossi M. G. *J. Food Protect.,* 1989, 52(9), 614–617.

152. Carpentier B., Wong A. C. L., Cerf O. *Bull. IDF* №329, 1998, 32–35.
153. Carzaroli C., Battistella M., Rodnini G. *Microbiologie, Aliments, Nutrition,* 1984, 12(3), 285–293.
154. Casado C. P. et al. *Informe agropecuario*, 1988, 13(155), 14–18.
155. Cerning J. et. al. *DSA*, 1988, 50(11), 698.
156. Cervantes M. A., Lund D. B., Olson N. F. *J. Dairy Sci.*,1983, 66, 204. Цит. по [845].
157. Champagne Claude P. *Biotechnol. Letters,* 1990, 12(10), 771–776.
158. Champagne Claude P., Gilard F. *J. Food Protect.,* 1990, 53(5), 391–403.
159. Champion H. M., Stanley D. W. *Canad. Inst. Food Sci. Technol. J.,* 1982, 15, 283.
160. Chamra I. et al. *Le Lait,* 1988, №2, 121–142.
161. Chander H., Lata K., Batish V. K., Bhatia K. L. *DSA*, 1986, 48(3), 164.
162. Chauly Thi Minh, Muller Hans E. *Zentralbl. Hyg. Umweltmed.* 1989, 189, №3, 272.
163. Chazaud M.-T. *Milchwissenschaft,* 1978, 8, 524.
164. Chazaud M.-T. *Rev. lait. franc.,* 1977, №358, 605, 607.
165. Cheese Aroma and Cheese Imitation. *DSA,* 1994, 56(1), 112.
166. Cheese. *IDF*, 1987, Bull., №216, 17.
167. Chen A. H. et al. *J. Dairy Sci.,* 1979, 62, 901. Цит. по [845].
168. Chen J. H., Hotchriss J. H. *J. Dairy Sci.,* 1991, 74(9), 2941–2945.
169. Chi K. H. et al. *Korean J. Dairy Sci.,* 1989, 11(3), 173–182.
170. Chiu L. et al. *DSA*, 1990, 52(5), 381.
171. Chopin M. C., Chopin A., Rouk C. *Appl. Environ. Microbiol.,* 1976, 31, 741–746.
172. Christen G. L. E. *Diss. Abst. Inter.,* 1982, 43(6), 1782.
173. Christensen J. E. et al. *Inter. Dairy J.,* 1995, 5(4), 367–379.
174. Christopherson A. I., Zottola E. A. *Abstr. J. Dairy Sci.*,1988, 71 (Suppl. 1), 89.
175. Cliffe A. J., Law B. A. *Food Chemistry,* 1990, 36(1), 73–80.
176. Cliffe A. J., Law B. A. *J. appl. Bacteriol.,* 1979, 47, 65.
177. Cloet P. R. et al. *DSA*, 1990, 52(5), 387.
178. Cogan C. M. *Irish J. Food Sci.,* 1982, 6, 69.
179. Cogan T. M. *Dairy Ind. International,* 1976, 41(1), 14–16.
180. Cogan T. M., Daly C. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology».* V. I. General Aspects. Elsevier Appl. Sci., London and New York, 1987, 179–249.
181. Cohem-Maurel E. *DSA*, 1988, 50(5), 239.
182. Cole M. B., Jones M. V. *DSA*, 1990, 52(11), 927.
183. Collin J. C. et al. *Le Lait*, 1987, №3, 299–318.
184. Collins E. B. *Appl. Microbiol.,* 1955, 3(3), 138–137.
185. Collins E. B., Harvey R. J. *J. Dairy Sci.,* 1962, 45, 32.
186. Collins T. B. *J. Dairy Sci.,* 1977, 60(5), 799–804.
187. Consumption Statistics for Milk and Milk Prod. *IDF,* 1983, Doc. 160.
188. Cornonen N., Rintamaki O., Antila M. *XX Inter.Dairy Congr.,* Paris, 1978, 84.

189. Coulon J. B. *Recmeil Medicine Veterinari,* 1994, 170(6–7), 375–380.
190. Cowen-Maurel E. *DSA,* 1988, 50(5), 239.
191. Cox L. J., Keller N., Schothorst. *J. appl. Bact.* Sym. Suppl. 1988, 237S–249S.
192. Creamer L. K. et al. N. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.,* 1988, 23(3), 185–194.
193. Creamer L. K. *J. Dairy Sci.,* 1975, 58, 287–292.
194. Creamer L. K. *Milchwissenschaft,* 1985, 40, 589.
195. Creamer L. K., Olson N. F. *J. Food Sci.,* 1982, 47, 631. Цит. по [845].
196. Crow V. L. *Appl. Environ. Microbiol.,* 1986, 52(2), 352–358.
197. Crow V. L. *DSA,* 1986, 48(11), 769.
198. Crow V. L. et al. *Int. Dairy J.,* 1995, 5(5), 451–472.
199. Crulach J. *Int. Dairy,* 1953, 1096.
200. Cuer A. et al. *J. Agric. Biol. Chem.,* 1979, 43, 1783.
201. Cummins C. S., Johnson J. L. The Genus Propionibacterium. In: *«The Prokaryotes».* Berlin etc., Springer-Verlag, 1981, v. II, 1894–1902.
202. Cunthia C. *Dairy Foods,* 1987, 88(5), 11.
203. Cushnanan A., Mayne C. S. *Animal Sci.,* 1995, 60(3), 337–340.
204. Czarnocka-Roczniakowa B., Jaworska J., Kornacka D. *Le Lait,* 1972, 52(513/514), 193–202.
205. Czulak J. et al. *J. Dairy Res.,* 1969, 36(1), 93–101.
206. Dacre J. C. *J. Dairy Res.,* 1958, 25(3), 409–413.
207. Dacremont C., Vickers Z. *J. Food. Sci.,* 1994, 59(5), 981–983.
208. Dahlberg A. C., Kosikovski F. V. *J. Dairy Sci.,* 1948, 31(4), 305.
209. *Dairy Foods,* 1995, 96(10), 84.
210. *Dairy Ind. Inter.,* 1988, 53(7), 27.
211. *Dairy Ind. Inter.,* 1989, №1, 9.
212. Dalche R. et al. *DSA,* 1983, 45(4), (2047).
213. Dalgleish D. G. In: *«Cheese: chemistry, physics and microbiology».* Ed. P. F. Fox. Elsevier appl. Sci., London – New York, 1987, v. 1, 63–96.
214. Dalgleish D. G. et al. *J. Dairy Res.,* 1987, 54 (1).
215. D'Aogust D.-V. *Amer. J. Epidemiol.,* 1985, 122(4), 161.
216. D'Aogust D.-V. Contemporary Concerns on the microbial Safety of Milk and Dairy Products. Int. Seminar, *IDF,* 1989, 15–45.
217. Dartey C. K., Kinsella J. E. *J. Agric. Food Chem.,* 1071, 19, 771.
218. Darwish S. M. et al. *DSA,* 1996, 58 (1–3).
219. Das K. K. et al. *Asian J. Dairy Res.,* 1986, 5(1), 16–24.
220. Davis J. G. *Progress in industr. Microbiol.,* 1963, №4, 1.
221. Davis J. G. *Cheese.* v. 1. Basic Technology. London, J. A. Churchill, 1965, 463.
222. Dawson D. I., Fegan J. T. *J. Dairy Res.,* 1957, 24(2), 220–224.
223. Degle J. et al. *XX Inter. Dairy Congr.,* 1978, v. E, 558–559.
224. Deibel R. *Dairy Industries Inter.,* 1986, 51(9), 37.
225. Delacroix J. et al. *J. Food Sci.,* 1990, 55(6), 1725–1727, 1739.
226. Delaglio F. et al. *DSA,* 1996, 58(4), 2589.

227. Delaglio F. *Bull. IDF «Fermented Milks. Science and Technology»*, №227, 1988, 34–35.
228. Delbeke R. et al. *DSA*, 1988, №7, 452.
229. Delbiche R., Paelinch H., Martens R. *DSA*, 1983, 45(4), 240 (2047).
230. Denkov T. S. et al. *DSA*, 1972, 34(9), (4040).
231. Dennis R. *Dairy Ind. Int.*, 1983, 48(9), 25, 27.
232. D'errico et al. *Riv. Soc. Ital. Sci. Alim.*, 1990, 19(1–2), 47–52.
233. Desmazeaud M. J. et al. *Le Lait*, 1976, 56(557), 379–396.
234. Desmazeaud M. J. *XX Inter. Dairy Congr.*, v. E, 1978, 469.
235. Desmazeaud M. J., Vassal L. *Le Lait*, 1979, №587, 327–344.
236. Devoyod J. J. *DSA*, 1975, 37(5), 271.
237. Devoyod J. J. *Le Lait*, 1970, 277–284.
238. Devoyod J. J., Bret G., Auclair J. *Le Lait*, 1968, 48, 613–630. Цит. по [1749].
239. Dezmazeaud M. J. *XX Inter. Dairy Congr.*, v. E, 1978, 469.
240. *Die Nahrung (Food)*, 1990, 34(3), 213–217.
241. Diermyr P. et al. *J. Dairy Res.*, 1987, 54(1), 51–60.
242. Dillon J. C. In: *Le Fromage*. 1984, Lavosier, Paris, 497.
243. Dolby R. M., Harkness W. L. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1955, 37A, 68.
244. Dolezalek J. *DSA*, 1978, 40(1), 58.
245. Dolezalek J., Bezdeka Z., Bchacenko J. *DSA*, 1983, 45(1), 533.
246. Dominguez J. F. F. et al. *Lett. Appl. Microbiology*, 1987, 4, 125, 127.
247. Dominguez R. *Canad. J. Microbiol.*, 1985, 31, 938–941.
248. Donkin S. S. et al. *J. Dairy Sci*, 1987, 70 (Suppl.1), 117.
249. Donnelly C. W., Brigos E. H., Donnelly L. S. *J. Food Protect.*, 1987, 50(1), 14–17.
250. Donnelly C. W., Leslie J. E., Black L. A. *Appl. Microbiol.*, 1968, 16, 917–924.
251. Donnelly W. J., Barry J. G. *J. Dairy Res.*, 1983, 50 (4), 433–441.
252. Dovat A. V. et al. *Milk Food.Technol.*, 1970, 33(9), 365.
253. Doxastakis G. Milk Proteins. In: *«Food Emulsifiers: Chem., Technol., Funct., Prop. and Appl.»*, Amsterdam etc., 1989, 9–62.
254. Doyle M. P. (ed.). *Foodborne Bacterial Pathogens*. Marcel Dekker Inc., New-York, 1989.
255. Doyle M. P. et al. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1987, 53(7), 1433–1436.
256. Drake M. A., Swanson B. G. *Trends in Food Sci. and Technol.*, 1995, 6(11), 366–369.
257. Driessen F. M., Bouman S. *Nordeuropaeisk Mejeritidsskrift.*, 1981, 47(2), 39–44.
258. Drissen F. M. et al. *Zuivelzicht*, 1979, 71(48), 1062–1064.
259. Drissen F. M. *Neth. Milk Dairy J.*, 1981, 35(3/4), 344–348.
260. Ducruet P. et al. *Technq. Lait*, 1980, 940, 30.
261. Dumont J. P., Delespaul G. et al. *Le Lait*, 1977, 57(569–570), 619–630.
262. Duthie A. N. et al. *Milk Food Technol.*, 1976, 39(11), 774–775.
263. Dutta S. M. et al. *Milk Food Technol.*, 1972, 35(4), 242–244.

264. Dzures D. J. *J. Diss. Abstr. Inter.*, 1982, 43(4), 1028.
265. Dzures D. J., Zall R. R. *J. Dairy Sci.*, 1982, 65, 2296.
266. Eberhard P., Fluckiger E. *Schweiz. Milch Ztg.*, 1978, 104, 24. Цит. по [845].
267. Eberhard P., Fluckiger E. *Schweiz. Milch Ztg.*, 1981, 107(5), 23. Цит. по [1025].
268. Eddy D. W., Hull R. R. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1987, 42(3/4), 48–52.
269. Eddy D. W., Hull R. R. *DSA*, 1988, 50(8), 516.
270. Egmond H. P. 1988, 6(2), 139–189.
271. Eino M. F. et al. *J. Dairy Res.*, 1976, 1976, 43, 113.
272. Einsatz von Lyzozym und Nitrat bei der Herstellung von Edamer Käse. *Deutsche Molkerei-Zeitung*, 1988, 109(116), 483–485.
273. El-Bassiony T. A. et al. *Asian. veterinary medical. J.*, 1985, 15(29), 101–105.
274. El-Gazzar F. E., Marth E. H. *J. Dairy Sci.*, 1987, 70 (Suppl.1), 86.
275. El-Gazzar F. E. Assiant. *J. Agric. Sci.*, 1993, 24(2), 49–60.
276. El-Gendy S. M. et al. *J. Food Protect.*, 3, 46(4), 335–338; 46(5), 429–433.
277. El-Gendy S. M. et al. *Milchwissenschaft*, 1981, №9, 574.
278. Elliot J. A. *J. Dairy Sci.*, 1978, 61(8), 1192–1195.
279. El-Safty M. S. et al. *Egypt. J. Dairy Sci.*, 1989, 17(1), 115–124.
280. El-Sayed Narges H. et al. *Egypt. J. Dairy Sci.*, 1993, 21(1), 151–162.
281. El-Soda M. et al. *DSA*, 1986, 48(10), 5836, 691.
282. El-Soda M. et al. *Egypt. J. Dairy Sci.*, 1990, 18(1), 171–193.
283. El-Soda M. et al. *Food Chem.*, 1992, 44(3), 179–184.
284. El-Soda M. et al. *Milchwissenschaft*, 1981, №3, 140–142.
285. El-Soda M. et al. *Util. enzymes technol. alim.* Symp. int. Versailles, Paris, 1982, 209–302.
286. El-Soda M. et al. *Egypt J. Dairy Sci.*, 1990. 18(2), 273–279.
287. El-Soda M., Desmazeaud M. J. *Canad. J. Microbiol.*, 1982, 28, 1181.
288. Engel G. *Milchwissenschaft*, 1981, №4, 245.
289. Engel G., Prokopek D. *Milchwissenschaft*, 1980, 35, 218.
290. Engels W. J. M., Visser S. *Neth. Milk Dairy J.*, 1994, 48(3), 127–140.
291. Enjalbert F. *Le Point Veterinaire*, 1994, 25 (1560), 769–778.
292. Er-Erian A. F. M. *Meded. Landb. Hogesch.*, 1969, Wageningen, 69(12), 1.
293. Erickson R. J. *J. Dairy Ind. Internat.*, 1980, 45(3), 37–44.
294. Erikson I., Sjostrom G. *Svenska Mejeritidne*, 1967, 59(16), 219, 220, 224, 224; (17), 235–238, 240–244.
295. Evans E. W., Manning D. J. *IDF*, 1973, F-Doc 18.
296. Exterkate F. A. et al. *Neth. Milk Dairy J.*, 1987, 41(4), 307–332.
297. Ezzat Nihal, *Egypt. J. Dairy Sci.*, 1990, 18(2), 435–445.
298. Ezzat Nihal, El-Shafei H. *Egypt. J. Dairy Sci.*, 1991, 19(2), 347–358.
299. Facklam R., Wilkinson H. W. «*The Prokaryotes*». Vol. II. Berlin etc. 1981, 1572–1597.
300. Faginder C. M. et al. *Informe agropecuario*, 1988, 13, 155.
301. Farber J. M. et al. *Int. J. Food. Microbiol.*, 1988, 7, 277–286.

302. Farber J. M., Sanders G. W., Speirs J. I. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1990, 23(3), 252–254.
303. Farkye N., Fox P. *J. Dairy Sci.* 1990, 73(4), 874–880.
304. Farrag S. A., Marth E. H. *Food Austral.*, 1992, 44(6), 281–284, 286.
305 Farrow J. A. E. *J. appl. Bacteriol.*, 1980, 49, 493.
306. FDA's Dairy Product Safety Initiatives. Preliminary Status Report. *Dairy Food Sanitation*, 1987, 7(3), 124–127.
307. Fedrick I. A. et al. *DSA*, 1984, 46(4), 286 (2462).
308. Feirtag J. M. et al. *J. Dairy Sci.*, 1987, 70(9), 1773–1778.
309. Feiulat M. et al. *Le Lait*, 1972, №519–520, 629–640.
310. Fernandez G., Suarez. *Acta Microbiol. Hungn.*, 1989, 36(2–3), 277–280.
311. Firstenberg-Eden R., Rosen B., Mannheim C. H. *Can. J. Microbiol.*, 1977, 23(8), 1034–1037.
312. Foissi H. M. *Milchwissenschaft*, 1978, 33, 221.
313. Foltmann B. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology»*, v. 1. General Aspects, London – New York. Elsevier Applied Sci., 1987, 33–61.
314. Fonberg-Broczek M., Sawilska-Rautenstrauch D. *DSA*, 1996, 58(4), 272.
315. Font de Valder et al. *DSA*, 1986, 48(6), 399.
316. Font de Valder et al. *Microbiologie, Aliments, Nutrition*, 1984, 2(4), 319–323.
317. *Food Biotechnology*, 1989, 3(2), 105–126.
318. *Food Ingredients and Process*, 1992, 29.
319. *Food Standards Code*. Canberra, 1987.
320. Foodborne Listeriosis. WHO working Group Recomendations. *Milchwissenschaft*, 1989, 9, 65–87.
321. Fortina M. G. et al. *J. Food Sci.*, 1989, 1(3), 63–70.
322. Fossa E. et al. *DSA*, 1955, 57(6), 3964.
323. Fossa E., Pecorari M., Sandiri S. et al. *Scienze e Technica Lattiere - Casearia*, 1994, 45(6), 519–535.
324. Foster E. M. *J. Dairy Sci.*, 1962, 45(10), 1290.
325. Fox P. F. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology»*. London–New York, Elsevier appl. Sci, 1987, v. 1, General aspects, 1–32.
326. Fox P. F. In: *«Milk the vital Force»*, Proc. of XXII Inter. Dairy Congr. Dordrecht etc., R. Reidel Publisher Co., 1987, 61–73.
327. Francis D. W., Spaulding P. L., Lovett J. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1980, 40(1), 174–176.
328. Fremy J., Rolland J. *Ann. Nutritio'Alimentation*, 1979, 33(5), 619–630.
329. Fresta M., Wehrli E., Pugisy G. *J. Microencapsulation*, 1995, 12(3), 307–325.
330. Frey J. P. *DSA*, 1988, 50(9), 584.
331. Fryer T. F. *DSA*, 1969, 31(9), 471–490.
332. Fukal L. *Prumysl Potravin*, 1988, 39(4), 196–198.
333. Furtado M. et al. *Le Lait*, 1984, №640–642, 368–379.
334. Galesloot Th. E. *Neth. Milk Dairy J.*, 1961, 15(1), 31–79.
335. Galesloot Th. E. *Neth. Milk Dairy J.*, 1961, 15, 395–410.
336. Galesloot Th. E. *XVI Inter. Dairy Congr.*, 1962, 143.

337. Galesloot Th. E., Kooy J. S. *Neth. melk. en Zuiveltijdschr.*, 1960, 14, 1.
338. Galesloot Th. E., Robertsen T., Badings H. T. *DSA*, 1970, 32(1)
339. Galli A., Vezzuli U. *DSA*, 1984, 46(8), 576.
340. Garayzabal J. F. et al. *J. appl. Bacteriol.*, 1987, 63(6), 533–537.
341. Garayzabal J. F. et al. *Veterinary Record*, 1987, 120(11), 258–259.
342. Garvie E. I. *International J. Systematic Bact.*, 1974, 24, 301–306.
343. Garvie E. I. *J. Dairy Res.*, 1960, 283.
344. Garvie E. I. *J. Dairy Res.*, 1978, 45(3), 515–518.
345. Garvie E. I. *Meth. Microbiol.*, 1984, 16, 147–178.
346. Garvie E. I. *Milk. J. Dairy Res.*, 1953, 20(1), 41.
347. Gasincova E. et al. *Italian J. Food Sci.*, 1994, 6(4), 449–452.
348. Gatti C., Pires M. *J. Dairy Res.*, 1995, 62(4), 667–672.
349. Gautier M. et al. *Le Lait*, 1995, 75(4/5), 427–434.
350. Gavett J. I., Garvie E. I. *J. appl. Bacteriol.*, 1967, 30(2), 377–3o1.
351. Geis A. et al. *DSA*, 1987, 49(5), 351.
352. Geis A., Kieffer B., Teuber M. *DSA*, 1987, 49(5), 351 (3023).
353. General code of hygienic practice for the dairy industry. *IDF*, B – Doc 72, 1979.
354. Geurts T. J., Walstra P., Mulder H. *Neth. Milk Dairy J.*, 1974, 28, 102. Цит. по [401].
355. Geurts T. J., Walstra P., Mulder H. *Neth. Milk Dairy J.*, 1980, 34, 229. Цит. по [401, 1147].
356. Gibson T. J. *J. appl. Bacteriol.*, 1965, 28(1), 56–62.
357. Gilbert R. I., Wieneka A. A. In: *«The Microbial Safety of Food»*, Academic Press, London - New York, 1973, 273–285.
358. Gilles et al. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1983, 18, 109–130.
359. Giorgi G. S. et al. *J. Dairy Sci.*, 1985, 68(9), 2160–2164.
360. Giraffa G. et al. *Latte*, 1992, 17(11), 1057–1058.
361. Gireesh S. P. A., Laxminarayana H. *Indian J. Animal Sci.*, 1987, 57(5), 470–474.
362. Glaeser H. *Dairy Ind. Int.*, 1989, 11, 19.
363. Glatz B. A., Anderson R. I. *J. Dairy Sci.*, 1988, 71(7), 1769–1776.
364. Glatz B. A., Brudvig S. A. *J. Food Protect.*, 1980, 43(5), 395–398.
365. Glegg K. M., Lim C. L., Mauson W. *J. Dairy Res.*, 1974, 41(2), 283–287.
366. Gobetti M. et al. *Le Lait*, 1995, 75(2), 169–179.
367. Godinho M., Fox P. F. *Milchwissenschaft*, 1981, 36, 205, 329, 476.
368. Goel M. C., Marth E. H. *J. Dairy Sci.*, 1969, 52(8), 1207.
369. Gognev T. *DSA*, 1988, 50(8), 506.
370. Gomez-Lucia E. et al. *J. appl. Bacteriol.*, 1986, 61(6), 499–503.
371. Goodhead K. et al. *Neth. Milk Dairy J.*, 1976, 30, 207. Цит. по [1147].
372. Goran Sillen. *Dairy Ind. Inter.*, 1987, 42(6), 27–29.
373. Gouda A. *Dtsch. Lebensmittel-Rdsch*, 1985, 81(70), 216–218. РЖХ, 1985, 22P264.
374. Gouda A. *J. Food Sci.*, 1987, 15(2), 211–217.

375. Graet Y. le et al. *Le Lait,* 1983, 63, 317.
376. Grandison A. *Dairy Industries Int.,* 1986, 51(3), 21–24.
377. Grappin R. et al. *Le Lait,* 1987, 67(2), 219–235.
378. Grappin R., Beuvier E. 1997. *Bull. IDF* №327, 16–19.
379. Gray J. I., Morton I. D. J. *J. Human Nutr.,* 1981, 35, 5. Цит. по [885].
380. Green M. L., Grandison A. S. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology».* V. 1, General Aspects. London – New York, Elsevier Appl. Sci., 1987, 97–134.
381. Green M. L., Manning D. J. *J. Dairy Res.,* 1982, 49, 737.
382. Green M. L. *J. Dairy Res.,* 1986, 53(2), 329–332.
383. Green M. L., Marshall R. J., Glover F. A. *J. Dairy Res.,* 1983, 50, 341.
384. Green M. L., Turvey A., Hoobs D. J. *J. Dairy Res.,* 1981, 48, 343.
385. Griessen G. R., Richardson G. H. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.,* 1985, 20(2), 155–161. DSA, 1986, 48(2), 118, (992).
386. Grieve P. A., Dulley J. R. *Aust. J. Dairy Technol.,* 1983, 38(2), 49–54.
387. Griffith R. D. et al. *J. Dairy. Sci.,* 1988, 71, Suppl. 1, 67.
388. Griffiths M. W. *J. Sci. Food Agric.,* 1989, 47, 133–158.
389. Griffiths M. W. *Milchwissenschaft,* 1989, 44(9), 539–543.
390. Grillenberger G., Busse M. Z. *Lebensmittel-Untersuch. und Forch.,* 1979, 168(1), 1–3.
391. Gripon J.-C. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology».* v. 2. Major Cheese Groups. London etc., Chapman, Hall, 1993, 111–136.
392. Gripon J.-C. *J. Dairy Sci,* 1977, 60(10), 1532–1538.
393. Grover S. et al. *Aust. J. Dairy Technol.,* 1989, 44(2), 65–69.
394. Grufferty M. B., Fox P. F. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.,* 1988, 23(2), 143–152.
395. Grufferty R. et al. *Irish J. Food Sci.,* 1979, 3(1), 60–61.
396. Gudkov A. V. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology».* v. 2. Major Cheese Groups. London etc., Chapman and Hall, 1993, 281–299.
397. Gudkov A. V. In: *«Milk – the vital force».* XXII Inter. Dairy Congr., Hague, 1986, 83–93.
398. Gudkov A. V., Sharpe M. E. *J. appl. Bacteriol.,* 1965, 28(1), 63–73.
399. Gueguen M. *Microbiol. Alim., Nutr.,* 1988, 1, 31–35.
400. Guinee T. P. *Ph. D. thesis. National Uniersity of Ireland,* 1985. Цит. по [401].
401. Guinee T. P., Fox P. F. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology».* V. 1. General aspects. London – New York, Elsevier Appl. Sci., 1987, 251–298.
402. Guinee T. P., Pudja P. D., Farkye N. Y. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology».* V. 2. Major Cheese Groups. London etc., Chapman and Hall, 1993, 363–420.
403. Gurr M. I. *Bull. IDF* №329, 1998, 36–39.
404. Gurr M. I. In: «Milk and Health». *Bull. IDF,* №222, 1988, 10–13.
405. Hammond L. A. *Food Tecnol. Austral.,* 1976, 28(1), 11–13, 949.
406. Harding Charmaigne D. et al. *J. appl. Bacteriol.,* 1990, 69(5), 648–654.
407. Hargrove R. E. *J. Dairy Sci.,* 1959, 42(5), 906.

408. Harper W. J., Carmona A., Kristofferson T. *J. Food Sci.*, 1971, 36, 503.
409. Hartley C. V., Jezeski J. J. *J. Dairy Sci.*, 1954, 37, 436.
410. Haruta M., Muracami H. *Bull. of the Collage of Agriculture and Veterinary Medicine*, Nihon University, 1980, 37(55), 31–35.
411. Harwig J., Blanchfield B. J., Scott P. M. *Can. Inst. Food Sci. Technol.*, 1978, 11, 149. Цит. по [885].
412. Hassan H. N. et al. *DSA*, 1990, 52(4), 251.
413. Havelka B. *Veterinarstvi*, 1986, 36(1), 31.
414. Hayashi K. et al. *J. Dairy Res.* 1990, 57(4), 571–577.
415. Hayashi K., Cliffe A. J., Law B. A. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1990, 25, 180.
416. Hayes P. S. et al. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1986, 51, 438–440.
417. Heap H. A. *XX Inter. Dairy Congr.*, v. E, 1978, 551–552.
418. Heap H. A., Richardson G. H. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1985, 20(2), 155–161.
419. Heeschen W. Fasciolicides. *IDF*, 1978, A-Doc 39, 25–40.
420. Heeschen W. In: «*Chemical residues in milk and milk products*». *IDF*, 1978, A-Doc 9, 4–6.
421. Heeschen W., Bluthgen A. *Monogr. resid. and contamination milk and milk products.* Brussells, 1991, 120–130.
422. Heeschen W., Reichmuth G. *Dtsch. Molk. Ztg.*, 91, 1970, 342 bis 1350. Цит. по: [1691].
423. Hellmann E., Heinrich G. *Zbl. Bacteriol., Parasitenk., Infectionskrankh. u. Hyg.*, 1985, 188(1), 1–16.
424. Helmy Zakia A. *Zbl. Bacteriol., Parasitenk., Infectionskrankh. u. Hyg.*, 1975, Abt. 2, 130, №5, 461–467.
425. Helse B. A. *DSA*, 1954, 16(11).
426. Hemme D. et al. *Sci. Aliment.*, 1982, 2, 113.
427. Hemme D., Nardi M., Wahl D. *Le Lait*, 1981, №. 601–602, 1–18.
428. Henning D. R. et al. *J. Dairy Sci.*, 1968, 51, 16–21.
429. Henry A. *Revue Laitiere Francaise*, 1977, №350, 81, 83, 85.
430. Herian K. *DSA*, 1983, 45(10), 778 (7394).
431. Herian K. et al. *DSA*, 1990, 52(12), 1040.
432. Hetting D. H. et al. *J. Dairy Sci.*, 1969, 52(6).
433. Hewedi M. M., Fox P. F. *Milchwissenschaft*, 1984, 39, 198.
434. Hickey M. W. et al. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1986, 51(4), 825–831.
435. Hickey M. W., Hillier A. J., Jago G. R. *Aust. J. Biol. Sci.*, 1983, 37, 487.
436. Hicks C. L. *Cultural Dairy Prod.*, 1983, 18(5), 11–14.
437. Higenholtz J., Exterkate F., Konings W.N. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1984, 48(6), 1105–1110.
438. Hill A. R., Bullock D. H., Irvine D. M. *Can. Inst. Food Sci. and Technol. J.*, 1982, 15(1), 47–53.
439. Hill L. W. *Milk Food Technology*, 1970, 33(8), 305–364.
440. Hillier A. J. et al. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1975, 30(4), 149–152.
441. Hitkins R. et al. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1985, 50(4), 777–778.

442. Hitkins R. et al. *J. Dairy Sci.*, 1986, 69(1), 1–8.
443. Hitkins R., Morris H.A., McKay L. L. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1985, 50(4), 772–776. *DSA*, 1986, 48(1), 44.
444. Hoel I. *DSA*, 1982, 44(10), 777.
445. Hofherr L. A. et al. *J. Dairy Sci.*, 1983, 66(12), 2482–2487.
446. Hofstra H., Huisint J. H. *J. Appl. Bact. Sym. Suppl.*, 1988, 197S–210S.
447. Honer C. *Dairy Foods*, 1990, v. 91, 49–53.
448. Hood E. G. *DSA*, 1953, 15(1).
449. Hood E. G., Gibson C. A., Smith K. N. *Sci. Agric.*, 1952, 32(12), 638–644.
450. Hoodonk A. C. M. van et al. *Neth. Milk Dairy J.*, 1986, 40(2/3), 297–303.
451. Hoodonk A. C. M. van et al. *Neth. Milk Dairy J.*, 1987, 41(1), 3–18.
452. Hoorwood J. F. et al. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1987, 1–2, 25–26.
453. Horvath G. et al. *DSA*, 1983, 45 (1), 53.
454. Hosno Akiyoshi. *Bioprocess. Technol.*, 1990, 12(10), 5.
455. Howie J. *The Lancet*, 1981, v. II, №8252, 939.
456. Hug G. et al. *Neth. Milk Dairy J.*, 1983, 1/2, 37, 106–107.
457. Hugenholtz I. et al. *Antonie van Leewenhoek*, 1985, 51(4), 449.
458. Hull R. R. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1983, 38(4), 149–154.
459. Hull R. R. et al. *Aust. J. Dairy Technol.*,1982, 37(4), 143–146.
460. Hull R. R. *Proceeding of a Meeting organised by Dairy Res. Lab. CSIRO and Austr. Dairy Corporation.* 1978, 1–28.
461. Hull R. R., Roberts A. V., Mayes J. J. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1983, 38(2), 78–80.
462. Hup G. et al. *Milchwissenschaft*, 1981, №4, 244.
463. Hup G. et al. *Neth. Milk Dairy J.*, 1983, 37(1/2), 106–107.
464. Hup G. et al. *Nordeuropaeisk Mejeri-Tidsskunft*, 1975, 48(4), 145–154.
465. Hup G. et al. *Voedingsmiddelentechnologie*, 1982, 15(6), 75–79.
466. Hup G. et al. *Zuivelzicht*, 1979, 71(46), 1014–1016.
467. Hup G. et al. *Zuivelzicht*, 1979, 71(51/52), 1141–1143.
468. Hurst A. In: *«Revial injures Microbes»*. London, 77–103.
469. Hurtand C. et al. *Annales de Zootechnie*, 1995, 44(4), 385–398.
470. Husu J. R. et al. *DSA*, 1990, 52(10), 848–849.
471. Huttumen E., Noro K., Yang Z. *Inter. Dairy J.*, 1995, 5(5), 503-
472. *IDF*, 1986, F-Doc 121.
473. *IDF*, 1988, Bull. №234, 19.
474. *IDF*, 1989, B-Doc 170.
475. *IDF*, 1995, D-Doc 275.
476. *IDF*, Bull. №264, 1991, 2–19.
477. IDF, E-Doc 302, 1987, 29.
478. Imadion G. I., Farkye N. Y. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, 44(9), 2560–2562.
479. Imhof R., Isolini D., Bosset J. O. *Lebensm.-Wiss. u. Technol.*, 1990, 23, 305–311.
480. Ingham S. C., Ledford R. A. *J. Dairy Sci.*, 1985, 68(1), 77.

481. Innocente N., Corradini C. *Italian J. Food Sci.*, 1996, 8(4), 291–302.
482. Innocente N., Corradini C. *Sci. e Tech. Lattiero-Casearia*, 1996, 47(2), 89–102.
483. *Int. Dairy Congr.*, 1949, 5, Suppl., 19–29
484. Istgaard O. M. et al. *DSA*, 1965, 27(2), 63.
485. Iwanczak I. et al. *Milchwissenschaft*, 1995, 50 (11), 619–622.
486. *J. Food Protection*, 1977, №12, 757.
487. Jacob E. *Dtsch. Milchwirtschaft*, 1988, №18, 583–584, 586–589.
488. Jacquet J. *Lait matiere premiere ind.*, 1987, 207–212.
489. Jacquet J., Tantaoul-Elaraki A. *C. r. Acad. agr. France*, 1976, 62(3), 208–217.
490. Jager H. *Dtsch. Milchwirtschaft*, 1986, B 37, 17, 496.
491. Jakob E. *Dtsch. Milchwirtschaft*, 1988, №18, 583–584, 586–589.
492. Jang H. D., Woese C. R. *Appl. Microbiol.*, 1989, 12, 145–149.
493. Jang H. D., Svaisgood H. E. *J. Dairy Sci.*, 1990, 73, 900.
494. Jaouen J. P. le, Mens P. le. *DSA*, 1994, 56(1), 93.
495. Jarmul I., Reps A., Zelazowska H. *Prz. mlecz.*, 1982, 31(5), 3–5.
496. Jarvic M. *DSA*, 1995, 57(6), 506.
497. Jasper D. E. *Kieler Milchwissenschaftliche Forschungsberichte*, 1985, 37(4), 605–610.
498. Jespersen N. J. T. *XV Int. Dairy Cong.*, 1959, v. 3, 5, 1376.
499. Jimeno J., Lasaro M. J., Solberger H. *Le Lait*, 1955, 75(4/5), 401–413.
500. Johaunsen G. B. *Via Lactea*, 1974, 6(22), 17–21.
501. Johnson D. E. *J. Dairy Res.*, 1983, 50(2), 231–236.
502. Johnson E. M. et al. *J. Bacteriology*, 1976, 125(1), 385–386.
503. Johnson J. A. C. et al. *J. Dairy Sci*, 1995, 57(8), (5285).
504. Johnson J. A. C. et al. *J. Dairy Sci.*, 1995, 78(4), 769–776.
505. Johnson M. E. et al. *DSA*, 1988, 50(11), 700.
506. Johnson M. E. et al. *J. Dairy Sci.*, 1986, 69 (Suppl. 1), 75.
507. Johst F. *Milchforsch. Milchprax.*, 1977, 19(6), 125–126.
508. Jones D. *J. Appl. Bact. Sympos.* Suppl., 1988, 1s–19s.
509. Joosten H. M. L. et al. *Neth. Milk Dairy J.*, 1987, 41(3), 247–258.
510. Joosten H. M. L. *Neth. Milk Dairy J.*, 1987, 41(3), 259–280.
511. Joosten H. M. L. *Neth. Milk Dairy J.*, 1987, 41(4), 329–357.
512. Jorgensen H. *Maelkeritidende*, 1954, 67(4), 71–77.
513. Joyng J. *Food Manufacture*, 1995, 70(10), 63–77.
514. Juffs H. S. *Appl. Bact.*, 1978, 40(1), 53.
515. Julicher B., Sczutz M., Wiesner H. *Milchwissenschaft*, 1989, 44(9), 564–568.
516. Juven B. et al. *J. Food Protection*, 1981, 42(12), 938–941.
517. Kaartinen L. et al. *Veter. Microbiol.*, 1982, 21(2), 155–163.
518. Kabab M. *J. Dairy Sci.*, 1980, 63, 301–304.
519. Kalab M. et al. *Milchwissenschaft*, 1976, 31, 402.
520. Kalzendorf Ch. *Dtsch. Milchwirtschaft*, 1995, 46(16), 830; 832–834.
521. Kamaly K. M. *DSA*, 1988, 50(12), 762.
522. Kamaly K. M. et al. *DSA*, 1989, 51(1), 35.

523. Kamaly K. M., Marth E. H. *Rev. Suisse Agr.,* 1990, 22(1), 5–9.
524. Kammerlehner J. *DMZ, Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft,* 1993, 114(10), 240–246. *DSA,* 1994, 56(1), 636.
525. Kammerlehner J. *Dtsch. Milchwirtschaft,* 1995, 46(19), 1084–1086.
526. Kammerlehner J. *Dtsch. Milchwirtschaft,* 1995, 46(24), 1332, 1334–1335.
527. Kammerlehner J. The IDF cheese catalogue. *DMZ, Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft,* 1993, 114(22), 624–633.
528. Kanenisa H. et al. *DSA,* 1984, 46(10), 805, (7096).
529. Kang K. H. et al. *Korean J. Dairy Sci.,* 1989, 11(3), 204–216.
530. Kato I., Ando K. *Japan J. Dairy Food Sci.,* 1994, 43(4), A-87 – A-94.
531. Keddie R. M., Jones D. In: *«The Prokaryotes»,* v. II. Berlin etc., Springer-Verlag, 1981, 1838–1878.
532. Keen A. R. *J. Dairy Res.,* 39(1), 141–165.
533. Kefford B. et al. *J. Dairy Res,* 1995, 62 (3), 529–537.
534. Keinosuke O. et al. *Infection and Immunity,* 1981, 31(2), 554.
535. Kelly C. D. *J. Dairy Sci.,* 1937, 20, 239
536. Kempler G. M. et al. *J. Dairy Sci.,* 1979, 62, Suppl., 42–43.
537. Kempler G. M., McKay L. L. *J. Dairy Sci.,* 1981, 64(7), 1527–1532.
538. Keogh B. P. *J. Dairy Res.,* 1970, 38, 91.
539. Keogh B. P. *J. Dairy Res.,* 1973, 40(3), 303–309.
540. Khader A. E. et al. *DSA,* 1996, 58(4), (2218).
541. Kielwein G. *Arch. Lebensmittelhyg.,* 1978, 29(4), 127–128.
542. Kielwein G. *DSA,* 1979, 41(11), 6693, 748.
543. Kielwein G. *Dtsch. Milchwirtschaft,* 1976, 27(35), 1073–1076.
544. Kielwein G. *Dtsch. Molkerei-Ztg.,* 1975, 96(34), 1112–1120.
545. Kikuchi T. et al. *Ann. Biologie, animale Biochemie, Biophys.,* 1974, 14(2), 313–326.
546. Kikuchi T., Takafuji S. *Jap. J. Zootech. Sci.,* 1971, 42, 276.
547. Kim H. U. *Korean J. Animal Sci.,* 1980, 22(4), 291–300.
548. Kim K. S., Kim Y. K. *DSA,* 1986, 48(12), 875, (7524).
549. Kim M. S. et al. *J. Dairy Sci.,* 1987, 70, Suppl. 1, 66.
550. Kim S. S. et al. *Korean J. Dairy Sci.,* 1989, 11(3), 183–193.
551. Kimura T. *Snow Brand R and D Reports,* 1995, №105, 13–65.
552. Kinsella J. E., Hwang D. *Biotechnology and Bioengineering,* 1976, 18, 927–938. Цит. по [1748].
553. Kinsted P. S. et al. *J. Dairy Sci.,* 1984, 67, Suppl. 1, 58.
554. Kirby C. *Chem. Brit.,* 1990, 26(9), 847–850.
555. Kitchen B. J. *J. Dairy Res.,* 1981, 167–188.
556. Kizza J. et al. *Acta acad. agr. Ac. techn. Olsten Technol. aliment.,* 1991, 24, 47–58.
557. Kizza J. et al. *Milchwissenschaft,* 1982, №4, 246.
558. Klaenhammer T. R., Sanozny R. B. *J. General Microbiol.,* 1985, 131(6), 1531–1544.
559. Klerwein G. *Dtsch. Molkerei Ztg.,* 1976, 97(28), 841–842.

560. Kleter G. et al. *Neth. Milk Dairy J.*, 1982, 36(2), 79–87.
561. Kleter G. *Milchwissenschaft*, 1978, 33(3), 189.
562. Kleter G. *Neth. Milk Dairy J.*, 1977, 31(3), 177–187.
563. Kleter G., Lammers W. L., Vos E. A. *Neth. Milk Dairy J.*, 1984, 38(1), 31–41.
564. Knekt P. et al. *Br. J. Cancer*, 1996, 73, 687–691.
565. Knight M. et al. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, 1988, 71(3), 682–683.
566. Knight R. *«Adas» Quartely Review*, 1980, №39, 193–211.
567. Knutson K. M. et al. *DSA*, 1988, 50(12), 765.
568. Kocak C. et al. *Egypt. J. Dairy Sci.*, 1995, 23(1), 43–52.
569. Koch W., Kross W. *Wehmedizinische Monatschrift*, 1986, Bd. 30(5), 203–206.
570. Kolpatuthica P. V., McMahon D. *J. Dairy Sci.*, 1991, 74(1), 99.
571. Kolstad J., Low B. A. *J. appl. Bacteriol.*, 1985, 58(5), 449–499.
572. Koning P. J. *Neth. Milk Dairy J.*, 1988, 42(3), 354.
573. Kontova M. et al. *DSA*, 1986, 48(9), 615.
574. Korhonen H. et al. *XX Inter. Dairy Congr.*, 1978, v. E, 536–537.
575. Korycka-Dahl M. et al. *J. Dairy Sci*, 1983, 66, 704–711.
576. Kosikowski F. V., Dahlberg A. C. *J. Dairy Sci.*, 31(4), 285.
577. Kosikowski F. *Cheese and Fermented Milk Foods.* 2nd ed. Edwards Bros Inc., Michigan, 1982.
578. Kosikowski F. *Cheese and Fermented Milk Foods.* New York, 1966, 429.
579. Krabsen E., Ottosen N., Knarreberg L. *Internatiomal Patent Application.* 1994, WO 94/26121 AE.
580. Krari Josef. *Diss. Dokt. Agrarwiss. Fak. Landwirt. und Gartenbau*, Techn. Univ. Munchen, 1987, 4, 119.
581. Kreula M. *North. European Dairy J.*, 1977, 43(11–12), 1–9.
582. Kriel J. et al. *South African J. Dairy Technol.*, 1976, 8(1), 45–49.
583. Kristoffersen T. *J. Dairy Sci.*, 1967, 50(3), 279–284.
584. Kristoffersen T., Gould I. A. *J. Dairy Sci.*, 1960, 43(9), 1202–1215.
585. Kristoffersen T., Gould I. A., Purvis G. A. *J. Dairy Sci*, 1964, 47(6), 599–603.
586. Kroll S. et al. *Milchwissenschaft*, 1985, 40(2), 420.
587. Kukuchi T. et al. *J. Zootechnical Sci.*, 1988, 59(5), 388–394.
588. Kukuchi T., Desmazeaud M., Bergere J. L. *Le Lait*, 1973, 53 (527), 369–385.
589. Kundrat W. *Alimenta*, 1971, 10(4), 133–141; (5), 167–180.
590. Kunz B. *Milchforsch.-Milchprax.*, 1983, 25(5), 114–116.
591. Kunz B., Singer G. *Milchwissenschaft*, 1979, 12, 764.
592. Kunz U. F. et al. *Schweiz. Milchwirtschaft*, 1984, №1–2, 21–26.
593. Kurmann J. L. et al. *Schweiz. Milchzeitung*, 1977, 103(8), 51.
594. Kurmann J. L. *Schweiz. Milchwirtsch. Forsch.*, 1979, 8(4), 71–75.
595. Kurmann J. L., Schilt P. *Schweiz. Milchzeitung*, 1973, №9, 57–58.
596. Kutzner H. J. *Zblt. Bact.*, 1963, I orig., 191, 441.
597. Kyne P. *DSA*, 1987, 49(12), 838.
598. Lablee J. *Rev. ENIL*, 1981, №65, 37.
599. Lagerwerf F. M. et al. *J. Dairy Res.*, 1995, 62(4), 673–679.

600. Laleue L. C. et al. *J. Food Protect.*, 1987, 50(12), 1009–1012.
601. Lamberet G., Lenoir J. *Le Lait*, 1976, 56, 662.
602. Lau Kum Y. et al. *J. Dairy Sci.*, 1991, 74(3), 727–740.
603. Laurence R. C., Creamer L. K., Gilles J. *J. Dairy Sci.*, 1987, 70(8), 1748–1760
604. Lavinia P. et al. *Arch. Roum., Pathol. Exp. et Microbiol.*, 1987, 46(1), 5–15.
605. Law B. A. et al. *J. Dairy Res.*, 1979, 46(3), 497–509.
606. Law B. A. et al. *Milchwissenschaft*, 1977, 8, 500.
607. Law B. A. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology»*. Ed. P. F. Fox. London – New York, Elsevier Appl. Sci., 1987, V. 1, 365–392.
608. Law B. A. *Progress in Industrial Microbiology*, 1984, №14, 245–283.
609. Law B. A., Castanon M. J., Sharpe M. E. *J. Dairy Res.*, 1976, 43(1), 117–125; 301–311.
610. Law B. A., Kostad J. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1983, 43(3), 225–245.
611. Law B. A., Kostad J. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1983, 49, 225.
612. Law B. *New Sci.*, 1989, 122, №1666, 58–61.
613. Law B. A., Hosking Z. D., Chapman H. *J. Soc. Dairy Technol.*, 1979, 32(2), 87–90.
614. Lawrence O. E., Thomas T. D. *Symp. Soc. Gen. Microbiol.*, 1979, 187–219.
615. Lawrence R. C. et al. *J. Dairy Res.*, 1976, 43, 141–193.
616. Lawrence R. C. *IDF*, 1991, F-Doc 194.
617. Lawrence R. C. In: «Factors affecting the yield of cheese». *IDF*, Doc. 194, 1991.
618. Lawrence R. C. *Irish J. Food Sci. Techn.*, 1986, 10(2), 170–171.
619. Lawrence R. C. *Milk Industry*, 1978, 80(10), 22–26.
620. Lawrence R. C., Gilles J. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1969, 4, 189.
621. Lawrence R. C., Gilles J. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1982, 17, 1. Цит. по [401].
622. Lawrence R. C., Gilles J., Creamer L. K. In: *«Cheese: Chemistry, Physics, Microbiol.»* V. 2. Major Cheese Groups. London etc., Chapman, Hall, 1993, 1–38.
623. Lawrence R. C., Gilles J., Creamer L. K. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1983, 18, 175.
624. Lawrence R. C., Heap H. A. *IDF*, 1986, Bull. №199, 14.
625. Lawrence R. C., Pearce L. E. *Dairy Ind.*, 1972, 37(2), 73–78.
626. Lawrence R. C., Thomas T. D. *Symp. Soc. Gen. Microbiol.*, 1970, 187–269.
627. Lawrence R. C., Thomas T. D. *Symp. Soc. Gen. Microbiol.*, 1979, 187–219.
628. Lawrence R. C., Thomas T. D., Terzaghi B. E. *J. Dairy Res.*, 1976, 43, 141–193.
629. Le Fermentiazone Gasogene del Provolone. *DSA*, 1986, 48(12), 859.
630. Ledford R. A. et al. *J. Dairy Sci.*, 1989, 7 (Suppl.1), 149.
631. Lee B. H. et al. *J. Food Sci.*, 1990, 55(2), 386–390.
632. Lee C. H., Imoto E. M., Rha C. K. *J. Food Sci.*, 1978, 43, 1600. Цит. по [845].
633. Lee J. H., Fredricson A. G., Tsuchiy H. M. *DSA*, 1979, 39(8), 4538.
634. Lee K. N. et al. *Atherosclerosis*, 1992, 108, 19–25.
635. Leenders G. J. M. et al. *DSA*, 1984, 46(4), 233.

636. Leibensperger R. Y., Pitt R. E. *Grass Forage Sci.*, 1987, №3, 297–317.
637. Lemay A., Paquin P., Lacroix C. *J. Dairy Sci.*, 1994, 77(10), 2870–2879.
638. Lembke J. et al. *Milchwissenschaft*, 1981, №12, 781.
639. Lembke J., Teuber M. *Technique Laitiere*, 1984, №981, 13–16.
640. Lemche M., Jorgensen P. *Molkeritidende*, 1993, 106(6), 138.
641. Lemer R., Lortel S., Heijenoort, *Le Lait*, 1995, 75 (4/5), 345–365.
642. Lemke B. et al. *Monatshefte für Veterinarmedizin*, 1984, 40 (9), 295–300.
643. Lenoir J. *Ann. Technol. Agric.*, 1963, 12, 51–57. Цит. по [1748].
644. Lenoir J. *Bull. Fed. Inter. Lait*, 1984, 171, 3–20
645. Lenoir J. C. R. *Acad. Agric.* 1962, 48, 160. Цит. по [391].
646. Libudzisz Z. *Acta Alimentaria Polonica*, 1975, 1(3/4), 247–257.
647. Libudzisz Z. *DSA*, 1976, 38(10), 693, (6560).
648. Limsowtin G. K. Y. et al. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1977, 12(2), 101–106.
649. Limsowtin G. K. Y., Heap H. A., Lawrence R. C. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1980, 15(3), 219–224.
650. Lind C. *Molkeritidende*, 1952, 65(18), 427(19), 444–452(20), 476–482.
651. Linde S. G., Bester B. H. *DSA*, 1990, 52(6), 488.
652. Lindsay R. C., Rippe J. K. *ACS Simposium*, 1986, 317, 286. Цит. по [622].
653. Litopoulou Tzanetaki E. et al. *J. Dairy Sci.*, 1989, 72(4), 854–858.
654. Lloyd J. T. *DSA*, 1971, 33(6), 411–416.
655. Lodi R. et al. In: *«Posters presented at the XXII IDF»*. 1986, 60–61.
656. Lodi R. et al. *Latte*, 1985, 10(6), 549.
657. Lompe A. *Dtsch. Milchwirtschaft*, 1979, 30(28), 1037–1042.
658. Long L. de. *Neth. Milk Dairy J.*, 1978, 32, 1. Цит. по [845].
659. Lopes J. A. *J. Dairy Sci.*, 1986, 69 (Suppl.1), 51.
660. Loud Norman D. et al. *Patent USA* T 3992523, 1976.
661. Lowrie R. J. et al. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1974, 9(3), 116–121.
662. Lubert D. J., Frazier W. C. *J. Dairy Sci.*, 1955, 38, 981.
663. Lubudzisz Z. et al. *Acta Alimentaria Polonica*, 1980, 6(4), 259–267.
664. Luchese R. H. et al. *Coletanea do Instituto de technologia de Alimentos*, 1981/1982, 12, 15–26. *DSA*, 1984, 46(1–3), 136.
665. Luck H. et al. *South African J. Dairy Technol.*, 1974, 6(3), 179–182.
666. Macedo Queiroz I. et al. *J. Agr. Food Chem.*, 1996, 44(1), 42–47. *РЖ Химия*, 1996, 10Р1151.
667. Machmoud S. Z. et al. *Egypt. J. Food Sci.*, 1985, 13(2), 151–155.
668. Mafu A. A., Roy D. *J. Dairy Sci.*, 1989, 72 (Suppl. 1), 172.
669. Magdoub M. N. et al. *Annals of Agric. Sci.*, 1993, №1, special issue, 97–110.
670. Maginnis R. L., Cone J. F. *J. Dairy Sci.*, 1958, 41, 706.
671. Mahmond H. M. A. et. al. *J. Dairy Sci.*, 1988, 71 (Suppl. 1), 63.
672. Mahmoud S. Z. et al. *DSA*, 1986, 48(5), 385.
673. Maisnier-Patin et al. *Le Lait*, 1992, 72, 259.

674. Malic R. K., Kumar N., Mathur D. K. *Cultured Dairy Products J.*, 1995, 30(2), 10–12, 14–15.
675. Malkamaki M., Matilla T., Sandholm M. *J. Veterinary Medicine*, 1986, 33(7), 174–179.
676. Malm B., Magmusson E., Hildinson B. *DSA*, 1955, 17(12), 1050.
677. Mann J. C. de, Galesloot Th. E. *Neth. Milk Dairy J.*, 1962, 16(1), 1–23.
678. Manning D. J. *J. Dairy Res,*. 1979, 46, 523.
679. Manning D. J. *J. Dairy Res.*, 1974, 41, 81.
680. Manning D. J., Robinson H. M. *J. Dairy Res.*, 1973, 40, 63.
681. Mans de Mariox M. C. et al. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1995, 50(1), 1–5.
682. Mantera-Alhunen S. et al. *Poster presented at the XXII Inter. Dairy Congr.* Hague, 1986, *IDF*, 75–76.
683. Mantera-Alhunen S. *DSA*, 1978, 40(8), 461.
684. Marcos A. et al. *J. Dairy Sci.*, 1981, 64, 622.
685. Marcos A., Esteban M. A. In: *«Cheese: Chemystry, Physics and Microbiology»*. V. 2, Major Cheese Groups. London etc., 1993, Chapman and Hall, 173–219.
686. Marek B. In: *«Chemical residues in milk and milk products»*. *IDF*, 1978, A-Doc 39, 18–24.
687. Maret R. et al. *XX Inter. Dairy Congr.*, v. B, 1978, 468.
688. Mariani P. *Sci. tecn. latte-coscaria.*, 1994, 45(1), 15–26.
689. Mariani P., Pecorari M. *Il mondo del latte*, 1988, 42(1), 7–20.
690. Marth E. H. *J. Dairy Sci.*, 1962, 45(10), 1271.
691. Marth E. H. *J. Dairy Sci.*, 1969, 52(3), 283.
692. Martin B., Coulton J. B. *Le Lait*, 1995, 75(2), 133–149.
693. Martin B., Coulton J. B. *Le Lait*, 1995, 75(1), 61–80.
694. Martin D. R., Gilland S. E. *J. Food Protection*, 1980, 43(9), 675–678.
695. Martinez Moreno J. L. *Revista Espanola de Lecheria*, 1977, №103, 3–10.
696. Martley F. G. et al. *XX Inter. Dairy Congr.*, 1978, v. E, 555.
697. Martley F. G. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1983, 18(3), 191–196.
698. Massoni F. et al. *Ind. Latte*. 1982, 18(3/4), 25–52.
699. Maszkiewicz J. et al. *Bromatol J. Chem. Toksykol.*, 1988, 21(2), 119–123.
700. Matteuzzi D. et al. *J. Appl. Bact.*, 1977, 43, 375–382.
701. Maubois J. L. *Latte*, 1992, 17(7), 646–649.
702. McCarney et al. *Milchwissenschaft*, 1995, 50(12), 670–674.
703. McClure P. J., Roberts T. A., Oguru P. O. *Lett. Appl. Microbiol.*, 1989, 9(3), 95–99.
704. McCullough N. B., Eiser C. W. *J. Inf. Dis.*, 1951, 88, 288–289.
705. McGugan W. A., Emmons D. B., Larmond E. *J. Dairy Sci.*, 1979, 62, 398.
706. McGugan, *J. Agric. Food Chem.*, 1975, 23(6), 1047–1050.
707. McKay A. M. *DSA*, 1990, 52(10), 655.
708. McKay L. L. *J. Dairy Sci.*, 1990, 73, Suppl. 1, 78.
709. McLauchlin J. *J.appl. Bacteriol.*, 1987, 63(1), 1–11.

710. McMahon D. J. et al. *J. Dairy Sci.,* 1984, 67(5), 930–938.
711. McManus C., Lauier J. M. *J. Food Protect.*, 1987, 50(1), 51–55.
712. McSweeny P. L. H. et al. *Irish J. Agric. Food Res.*, 1994, 33(2), 183–192.
713. Mehala M. A., Cheryan M. *Milchwissenschaft,* 1983, №3, 137–140.
714. Meitzer L. E., Mistry V. V. *J. Dairy Sci.*, 1995, 78(9), 1883–1895.
715. Mergl M. *Prumysl Potravin,* 1984, 35(11), 567–568.
716. Merilainen V. et al. *Meijerieteellinen Aikakauskirij.* 1976, 34, 107–115. *DSA*, 39, 12, 838.
717. Mermeistein N. H. *Food Technol.*, 1982, 36(8), 69–76.
718. Metwally M. et al. *Egypt. J. of Dairy Sci.*, 1984, 12(2), 187–196.
719. Mevissen-Verhage E. A. E. *European J. Clinical Microbiology,* 1985, 4(6), 570–574.
720. Mijacevic Z., Stojanovic L., Ivanovic D. *Act. vet.,* 1992, 42, №5–7, 337–342.
721. Mikawa K. *Japanese J. Dairy Food Sci.,* 1987, 36(5), A-197-A-201, A-203-A-208.
722. Mikrofiltration zur Entfernung von Bakterien und Sporen. *Dtsch. Milchwirt.,* 1992, 43(3), 46, 48–50.
723. *Milchwissenschaft,* 1982, 37(6), 371.
724. Miljkovic N. et al. *XIX Inter. Dairy Congr.*, 1974, 1E, 140.
725. Milk Products and Health. *IDF*, Bull. №222, 1988.
726. Millet J. *Milchwissenschaft,* 1984, №4, 248.
727. Mills O. E., Thomas T. D. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.,* 1980, 15(2), 131–141.
728. Minagawa E. et al. *J. Food. Sci.,* 1989, 54(5), 1225–1229.
729. Minor L. L. In: *«The Prokaryotes»,* V. II. Berlin etc., Springer-Verlag, 1981, 1148–1158.
730. Mocquot G. *Inter. Sympos. on Conversion and Manufacture of Foodstuffs by Microorganisms.* Kyoto, 1971, 191–197.
731. Modler H. W. et al. *J. Dairy Sci.,* 1983, 66, 422.
732. Modler H. W., Kalab M. *J. Dairy Sci.,* 1983, 66, 430.
733. Moersohn M. *North European Food Dairy Prod. J.,* 1989, 55(4–5), 108–113.
734. Mohon R., Machoney A. *Milk. J. Dairy Sci.*, 1991, 74(1), 100.
735. Moller V. et al. *Milchwissenschaft,* 1988, №8, 482–486.
736. Monnet V. et al. *Appl. Microbiol. Biotechnol.,* 1989, 31, 112–118.
737. Monograph on bovine mastitis. *IDF*, Part I, Annual Bull., 1971; Part II, Annual Bull., 1973.
738. Monograph on the bacteriological quality of raw milk. *IDF*, A-Doc 47, 1979, 1–9.
739. Montila A. et al. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, 43(7), 1908–1951.
740. Mora R. *DSA*, 1988, 50 (4), 218 (1963).
741. Moreau C. *Le Lait,* 1980, 60, 254. Цит. по [737].
742. Morel F. *Process.* 1990, №1056, 50–52.
743. Morelli L. et al. *Can. J. Microbiol.,* 1986, 32(9), 758–760.
744. Morelli L. et al. *DSA*, 1987, 49(2), 126.
745. Moreno V., Kosikowski F.V. *J. Dairy Sci.,* 1973, 56, 33, 39.

746. Morgan M. E. *Biotechnol. a. Bioengineering,* 1976, 18, 953–965.
747. Morkus Z., Silverman G. I. *Appl. Microbiol.,* 20(3), 492–496.
748. Morr C. V. *J. Dairy Sci.,* 1985, 68, 2773.
749. Morris G., Feeley J. 1977. *Bull. WHO, 65(3),* 119–129. Цит. по [106].
750. Morris H. A., Tatini S. R. In: *«Milk the vital force».* Proc. XXII Inter. Dairy Congr., 1986, 187–195.
751. Mourgues R. et al. *Le Lait,* 1977, 57, 21.
752. Mourgues R. et al. *Le Lait,* 1977, №563–564, 131–149.
753. Mulder E. G. et al. *J. Appl. Bact.,* 1966, 29, 44. Цит. по [2].
754. Mullen W. M. A. *Dairy Ind. Inter.,* 1986, 86(11), 39–42.
755. Mullen W. M. A., Craword R. J. M. *J. Dairy Res.,* 1985, 52(10), 113–121; 123–138.
756. Mullen W. M. A., Daly C., Fox P. F. *Milchwissenschaft,* 1981, 36(5), 288–290.
757. Munksgaard L. et al. *Milchwissenschaft,* 1987, 4, 216–219.
758. Munksgaard L. et al. *Milchwissenschaft,* 1987, 43(3), 165–167.
759. Murata A. et al. *Agr. Biol. Chemistry,* 1974, 38(2), 367–373; 477–478.
760. Murphy M. G. et al. *Arch. Microbiol.,* 1985, 141(1), 75–79.
761. Murray S. K. et al. *J. Food Sci.,* 1983, 48(4), 1166–1169.
762. Naguib M. M. et al. *Egypt. J. Food Sci.,* 1987, 15(2), 133–139.
763. Nath K. R., Kostak B. J. *J. Food Protect.,* 1986, 49(9), 718–723.
764. Neumann H. J. et al. *Dtsch. Milchwiss.,* 1988, 39(33–34), 1094–1096.
765. Neve H., Heller K.I. *DSA,* 1996, 58(2), 167, (1357).
766. Ney K. H., Wirotama I. P., Freytag W. G. *British Patent* 1381737. Цит. по [391].
767. Ng Kwai Hang K. F., Politis J., Cue R. J., Marialli A. S. *Can. Inst. Food Sci. and Technol. J.* 1989, 22(3), 291–294.
768. Nielsen E. W. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology».* V. 2. London etc., Chapman and Hall, 1993, 247–253.
769. Nielsen E. W. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology».* V. 2. London etc., Chapman and Hall, 1993, 247–253.
770. Nielsen E. W. *XIX Inter. Dairy Congr.,* 1974, 1E, 439–440.
771. Nielsen E. W. *XX Inter. Dairy Congr.,* 1978, E, 607–609.
772. Niki R., Arima S. *DSA,* 1985, 47(10), 742.
773. Nilsen S. *Svenska Mejeritidn.,* 1959, 51(14), 175–177; 189–192.
774. Ninez M. *DSA,* 1978, 40(1), 59.
775. Niskanen A. et al. *Infection and immunity,* 1978, №8, 493–498.
776. Noldt E. *Malkeritidende,* 1989, 102(11), 234–236.
777. Nooitgedagt A. J., Hartog B. J. *Antonie van Leeuwenhoek.* 1985, 51(5/6), 609–610.
778. Noomen A. *Neth. Milk Dairy J.,* 1978, 32, 26.
779. Noomen A. *Neth. Milk Dairy J.,* 1978, 32, 49.
780. Noomen A. *Neth. Milk Dairy J.,* 1983, 37, 229.
781. Northolt M. D. et al. *Neth. Milk Dairy J.,* 1988, 42, 207–219.
782. Northolt M. D. *Voedingsmiddelentechnologie,* 1990, 23(25), 12–16.

783. Northolt M. D., Stadhouders J. *DSA*, 1985, 47(10), 724 (6368).
784. Northolt M. D., Stadhouders J. *Voedingsmiddelentechnologie*, 1985, 18(6), 20–23.
785. Northolt M. D., Otten G. *Posters Presented by the XXII Inter. Dairy Congr.*, Hague, 1986.
786. Nour M. A. et al. *Archiv fur Lebensmittelhygiene*, 1982, 33(5), 129–133.
787. Nour M. A. et al. *Egypt. J. Dairy Sci.*, 1986, 14(2), 135–141.
788. Nunez M. et al. *An JNJA Ser. Ganadera*, 1981, №12, 53–64.
789. Oberg C. J. et al. *DSA*, 1987, 49(5), 314.
790. O'Connor F. *Kieler Milchwirtsch.*, 33(4), 333–336.
791. Oehen V., Schilling P., Kessler W. *Schweiz. Milchzeitung*, 1971, 20, 164–197.
792. Ohaohi T. et al. *J. Jap. Soc. Food Sci. Technol.*, 1982, 20(2), 70–77.
793. Ohleyer E., Wilke C. R., Blauch H.W. *DSA*, 1987, 49(4), 2340, 273.
794. Ohmiya K., Sato J. *DSA*, 1969, 31(11), 4219.
795. Ohren J. A., Tuckey S. L. *J. Dairy Sci.*, 1969, 52, 598.
796. O'Keefe A., Fox P. F., Daly C. *J. Dairy Res.*, 1978, 45(3), 465–477.
797. Okigbo L. M. *DSA*, 1986, 48(11), 787.
798. Ollikainen P. et.al. *Milchwissenschaft*, 1988, №8, 497–499.
799. Ollikainen P., Kivela T. *Milchwissenschaft*, 1989, 44(4), 204.
800. Orskov F. In: *«The Prokaryotes»*. Berlin etc., Springer-Verlag, 1981, v. 2, 1128–1134.
801. Otenhaimer I. et al. *Mljekarstvo*, 1971, 21(4), 74–79.
802. Oterholm A. *Meieriposten*, 1982, 71(17), 432–440.
803. Otero A. et al. *J. appl. Bacteriol.*, 1988, 64(2), 117–122.
804. Otero A. et al. *Int. J. Food Microbiol.*, 1988, 6(2), 107–114.
805. Pack et al. M. Y. *J. Dairy Sci.*, 1968, 51(3), 339.
806. Pahkala F. *Meijeritieteell. Aikak*, 1986, 44(2), 74–85.
807. Pallasdies K. *DSA*, 1977, 39(5), 2631.
808. Palmer J. *IDF, Symposium on Bacterial Quality of Raw Milk*, Kiel, 1981.
809. Palmer-Benson T. B. *Food in Canada*, 1987, 47(6), 27–28.
810. Palumbo S. A. *DSA*, 1987, 49(10), 725.
811. Panell L. A., Olson N. F. *DSA*, 1990, 52(6), 507.
812. Parageorgion D. R. et al. *J. Food Protect.*, 1989, 52(2), 82–87.
813. Parageorgion D. R., Marth E. H. *J. Food Protect.*, 1989, 52(9), 625–630.
814. Pariridge J. A. *DSA*, 1985, 47 (3), 174.
815. Park C. E. et al. *Korean J. of Veterinary Public Health*, 1981, 5(2), 85–94.
816. Park C. E. et al. *The Lancet*, 1974, 1, №7849, 172–173.
817. Park G. M., Kang K. H. et al. *DSA*, 1984, 46(5), 344.
818. Park H. S. et al. *J. Dairy Sci.*, 1967, 50(4), 589–591.
819. Park H. S., Marth E. H., Olson N. F. *J. Dairy Sci.*, 1969, 52(6), 880.
820. Park Y. H. et al. *Livestock and Veterinary (S. Korea)*, 1985, 27(2), 39–44.
821. Parnell-Clunies E. et al. *J. Dairy Sci.*, 1988, 71(6), 1472–1483.
822. Patel R. S. et al. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technol.*, 1986, 19(4), 286–291.

823. Pauchard J. P. *Schweiz. Milchzeitung,* 1995, 121(18), 3, 11.
824. Paulsen J. et al. *J. Dairy Sci.,* 1980, 6(3), 912–918.
825. Pearce L. E., Skipper N. A., Jarvis D. D.W. *Appl. Microbiol.,* 1974, 27, 933.
826. Pecorari M. et al. *Sci. e Tecn. Latt.-Casearia,* 1988, 39(5), 319–337.
827. Pecorari M. *Sci. e Tecn. Latt.-Casearia,* 1981, 32(5), 287– 296.
828. Pedersen A. H., Birkkjaer H. E., Jespersen N. J. T. *DSA,* 1952, 14(11), 838.
829. Pedersen E., Thomsen J., Werner H. In: *N-Nitroso Compaunds Analysis, Formation and Occurrence.* JARC Scient. Publ. №31, Lyon, 1980, 493. Цит. по [885].
830. Pedersen A. H., Birkajaer H. E., Jespersen N. J. T. *DSA,* 1952, 14(11), 838.
831. Pekkanen T. J. et al. *Nord. Veterinarmed.,* 1977, 29(10), 436–439.
832. Pellissier J. P., Manchov P. *J. Food. Sci.,* 1976, 41(2), 231–233.
833. Peltola E. *Aikakausk.,* 1949, 2(1), 11–21.
834. Peltola E. *DSA,* 1950, 12(4), 229.
835. Pereira J. et al. *J. Food Protect.,* 1983, 45(14), 1306–1309.
836. Periente J. M. et al. *J. Dairy Sci.,* 1987, 70 (Suppl. 1).
837. Perry K. D. *J. Dairy Res.,* 1961, 28(3), 221–229.
838. Peterson H. et al. *Sci. Food Agr.,* 1989, 48(4), 411–412.
839. Phelan J. A., Renaud J., Fox P. F. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology».* V. 2, Major Cheese Groups. London etc., 1993, Chapman and Hall, 421–466.
840. Piairiewicz A. *Milchwissenschaft,* 1987, №9, 561–564.
841. Piveteau P. G., Condon S., Cogan T. M. *Le Lait,* 1995, 75(4/5), 333–343.
842. Pluta A. et al. *Prz. Mlecz.* 1985, №7, 25–27.
843. Polzhoter K. Z. *Lebensmittelunters. u. Forsch.* 1977, 163(3), 175–177.
844. Posthumus G. *DSA,* 1952, 14(12), 910.
845. Prentice J. H. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiol.»* London–New York, Elsevier Appl. Sci. v. 1, 1987, 299–344.
846. Prokopek V. D. et al. *Kiel. Milchwirt. Forschungsber.,* 1990, 42, №4, 565–596.
847. Prums G. *Milchforsch. Milchprax.,* 1988, 30, №2, 28–31.
848. Psychrophilic and Psychrotrophic microorganisms. *Experientia,* 1986, 42(1), 11–12.
849. Pugina P. et al. *DSA,* 1985, 47(1), 24.
850. Puhan Z. *IDF,* Second Cheese Week, 1988, 9.
851. Pulay G. *Elelm Jpar,* 1956, 10, №6.
852. Pulay G., Egyed I., Krasz A. *Teip. Kut., Kozl.,* 1968, I, 15–22.
853. Pulay G., Krasz A. *Elemiszertudomany,* 1968, №2, 145.
854. Raadsveld C. W., Mulder H. *Neth. Milk Dairy J.,* 1949, 3, 117.
855. Raadsveld C. W. *Neth. Milk Dairy J.,* 1952, 6(4), 342–355. Цит. по [845].
856. Rabie A. M. *Le Lait,* 1989, 69(4), 305–314.
857. Raccach M., McGrath R., Daftorian H. *Inter. J. Food Microbiol.,* 1989, 9(1), 25–32.
858. Radford D. R., Hull R. R. *Aust. J. Dairy Technol.,* 1982, 37(3), 104–106.
859. Raiter B., Sharpe M. E. *J. appl. Bacteriol.,* 1971, 34(1), 63–80.

860. Rajagopal S., Sandine W. *J. Dairy Sci.*, 73(4), 881–886.
861. Raju et al. *DSA*, 1989, 51(5), 228.
862. Ramanauskas R. *Proc. XX Intern. Dairy Congr.*, Paris, 777.
863. Rampilli M., Contarini G. et al. *Latte*, 1995, 20(5), 524–529.
864. Rapacci M. et al. *J. Dairy Sci.*, 1990, 73 (Suppl. 1), 111.
865. Rashed A. et al. *Tejipar*, 1981, 30(3), 54–57.
866. Rasmussen B. *Scand. Dairy Ind.*, 1988, №1, 13–15.
867. Rasmussen R., Barbano D. M. *J. Dairy Sci.*, 1987, 49(12), 7187.
868. Read R. B. *J. Dairy Sci.*, 1969, 52(9), 1494–1495.
869. Recommendation for the hygienic manufacture of milk based products. *IDF*, D44, 1992.
870. Reddy K. P., Richardson I. H. *J. Dairy Sci.*, 1977, 60(10), 1527–1531.
871. Reddy M. S. et al. *J. Dairy Sci.*, 1974, 57(1), 124–127.
872. Reichmuth J. Proc. Seminar on Mastiti Control. 1975, *IDF* Bull. Doc. 85. Цит. по [472].
873. Reimerdes E. H., Perez H., Ringqvist B. M. *Milchwissenschaft*, 1977, 32, 154.
874. Reinbold G. *J. Food Protect.*, 1982, 45(2), 119–124.
875. Reinheimer J. A., Demkow M. R., Calabrese L. A. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1990, 45(2), 4–46.
876. Reiter B. *Aliments-Nutrition*, 1984, 2, 1–2.
877. Reiter B. et al. *Infect. Immun.*, 1976, 13, 800.
878. Reiter B. et al. *J. Dairy Res.*, 1967, 34, 257.
879. Reiter B. et al. *J. Dairy Res.*, 1969, 36, 65–76.
880. Reiter B., Kirikova M. *J. Soc. Dairy Technol.*, 1976, 29(4), 221–225.
881. Rengipat S. et al. *DSA*, 1988, 50(11), 698.
882. Rengipat S. et al. *J. Dairy Sci.*, 1988, 71 (Suppl. 1), 111.
883. Renner E. *Die Molkerei-Zeitung Welt der Milch*, 1979, 33, 1206–1208.
884. Renner E. *IDF*, 1975, Doc. 85, 161.
885. Renner E. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiol.»* V. 1. Elsevier Appl. Sci., London etc., 1987, 345–363.
886. Renner E. In: *«Milk the vital Force»*. Proc. XXII Inter. Dairy Congr., 1986, 179–186.
887. Renner E. *Milk and Dairy Products in Human Nutrition.* Munchen, 1983, 450.
888. Reps A. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology»*. V. 2. Major Cheese Groups. London etc., Chapman and Hall, 1993, 137–172.
889. Rham O. de, Andrews A. T. *J. Dairy Res.*, 1982, 49, 587–596. Цит. по [472].
890. Ribeiro Silma H. S., Carminati D. *Sci. alim.*, 1996, 16(2), 175–185.
891. Richard J. et al. *Science des Aliments*, 1985, 5(6), seria IV, 21–24.
892. Richard J. *Kieler Milchwissenschaftliche Forschung*, 1981(4), 33, 342–346.
893. Richardson B. C. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1983, 18, 233–245.
894. Richardson B. C., Creamer L. K. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1973, 8(2), 46.
895. Riddell-Lawrence S. et al. *J. Dairy Sci.*, 1989, 72(2), 313–321.
896. Ritter P., Schwab H. *Schweiz. Milchztg.*, 1968, 94(14), Wiss. Beil., №117, 977–988.

897. Roberts R. F., Torrey G. S. *J. Dairy Sci.*, 1988, 71(1), 52–60.
898. Roberts T. A. et al. In: *«Psychrotrophic Microorganisms in Spoilage and Pathogenicity»*. London etc., Academic Press, 1981, 63–139.
899. Robertson N. H. *DSA*, 45(5), 338, (2971).
900. Roelof van der Meer. Dietary Calcium, Milk and the Prevention of Colon Cancer. *IDF News*, №139, 1993.
901. Roffe R., Vakhensden H. *DSA*, 1987, 49(5), 3054, 355.
902. Rogers S. A., Mitchell G. E. *J. Dairy Tech.*, 1994, 49(2), 70–74.
903. Rohomoser G., Kirchgessuar M. *Luchfungskunde*. 1984, 54(4), 276–287.
904. Rollman N. O., Sjostrom G. *Svenska Mejeritidningen*, 1946, 38, 199, 209. Цит. по [401].
905. Rosen B. et al. *Milchwissenschaft*, 1990, №3, 152–154.
906. Rosenow T. M., Marth T. H. *Cultural Dairy Products J.*, 1987, 22(11), 13–17.
907. Ross G. D. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1980, 35(4), 147–149.
908. Ross G. D., Linklater P. M., Hall R. *J. Aust. J. Dairy Technol.*, 1980, 35(3), 89.
909. Rowe B., Gross R. J. In: *«The Prokaryotes»*. Berlin etc., Springer-Verlag. 1981, v. 2, 1248–1259.
910. Rowe M. *Milk Inter.*, 1989, 91(7), 17–19.
911. Rowe M. T., Gilmour A. *J. Dairy Inter.*, 1985, 50(11), 15–21.
912. Rubin H. E. et al. *J. Dairy Sci.*, 1982, 65(2), 197.
913. Ruegg M., Blanc B. In: *«Water Activity: Influence on Food Quality»*. New York, Academic Press, 1981, 791.
914. Russel A. D., Gould G. W. *J. appl. Bacteriol. Sym. Suppl.*, 1988, 167S–195S.
915. Rysel E. T., Marth E. H. *J. Food Protect.*, 1987, 50(1), 7–13.
916. Rysel E. T., Marth E. H. *J. Food Protect.*, 1987, 50(5), 372–378.
917. Ryser E. T. et al. *Can. J. Microbiol.*, 1988, 34(6), 730–734.
918. Ryser E. T. et al. *J. Food Protect.*, 1985, 48, 746–750.
919. Saldamli S., Kaytanli M. *J. Dairy Sci.*, 1994, 22(2), 187–195.
920. Salih M., Sandine W. *J. Dairy Sci.*, 1990, 73(4), 887–893.
921. Salomskiene J. *Doc. diss*, Kaunas, 1997, 46.
922. Salus Milos et al. *Pat.* 27742, 1994. Словакия.
923. Salvadori P. et al. *Ind. Latte*, 1974, 10(3/4), 25–37.
924. Sanders M. E., Klaenhammer T. R. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1980, 40(3), 500–506.
925. Sanders M. E., Klaenhammer T. R. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1983, 46(5), 1125–1133.
926. Sandford M. L., Langlois D. E. *J. Milk Food Technol.*, 1976, 39(2), 90–94.
927. Sandi E., Cabba R. *DSA*, 1981, 43(10).
928. Sandine W. E. *Neth. Milk Dairy J.*, 1989, 211–219.
929. Sandine W. E., Elliker P. R., Anderson A. W. *J. Dairy Sci.*, 1959, 42(5),
930. Santer E. *DSA*, 1953, 15(6), 496.
931. Samuellson G. et al. *Milchwissenschaft*, 1988, 9, 608.
932. Schafer H. W., Olson N.F. *J. Dairy Sci.*, 1975, 58, 494.

933. Schiemann D.A. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1978, 36(2), 274–277.
934. Schindler P. H. *Mejeriposten*, 1977, 66(1), 7–9.
935. Schmidt D. G. In: *«Developments in Dairy Chemistry»*. v. 1. Proteins, Ed. P. F. Fox. London, Elsevier Appl. Sci. Publ., 1982, 61.
936. Schmidt J. L., Lenoir J. *Le Lait*, 1978, 58, 355.
937. Schmidt J. L., Lenoir. *Le Lait*, 1980, №595–596, 272–282.
938. Schmidt R. H. *J. Agric. Food Chem.*, 1976, 24(6), 1106–1113.
939. Schmidt Roseuz W., Schuler-Schmidt U., Spillman H. *DSA*, 1987, 49(9), 667.
940. Scholch U., Luthy J., Schlatter C. *Milchwissenschaft*, 1984, 36, 76.
941. Schroder A. *Zuivelbereid en Handel*, 1955, 61(14), 334–335.
942. Schroeder C. L. et al. *J. Dairy Sci.*, 1988, 71(8), 2010–2020.
943. Schuddenloot L. J. *Microbiologie, Aliments, Nutrition*, 1983, 1(2), 179–185.
944. Schukking S. *DSA*, 1981, 43(5), 368.
945. Scott R. *Cheesemaking Practice*. 2nd ed.– London: Elsevier Appl. Sci. Publishers, 1986.
946. Scott W. J . *Advances in Food Res.*, 1957, №7, 84–123.
947. Searles M. A., Finch J., Chaudan R. C. *J. Dairy Sci.*, 1969, 52(6), 894.
948. Sechaud L. et al. *Neth. Milk Dairy J.*, 1989, 43(3), 261–277.
949. Seidler R. J. The Genus Klebsiella (Nonmedical Aspects). In: *«The Prokaryotes»*. Berlin etc., 1981, v. 2, 1166–1172.
950. Seiffert N. F., Ramos M. G., Souca J. C. *DSA*, 1987, 49(12), (7155).
951. Sensidoni A. *Ind. Latte*, 1988, 24 (2), 169.
952. Seymour E. H. *J. Dairy Sci.*, 1988, 71(8), 2292–2296.
953. Shahani K. M., Harper W. J., Jensen R. G. et al. *J. Dairy Sci.*, 1973, 56(5), 531–543.
954. Shannon C. W. *Diss. Abstr. Inter.*,1975, B, 35(12), 5935–5936.
955. Sharpe M. E. The Genus Lactobacillus. In: *«The Prokaryotes»*. V. II. Berlin etc., Springer – Verlag, 1981, 1653–1679.
956. Shehata A. E., Gaafar A. M., Moustafa G. A. *DSA*, 1996, 58(4).
957. Shelly A. W. et al. *J. appl. Bacteriol.*, 1986, 61(5), 395–400.
958. Shendy A. Y. et al. *Egypt. J. Dairy Sci.*, 1993, 21(1), 89–96.
959. Shinoda J. et al. *Agric. Biol. Chemistry*, 1985, 49(9), 2587–2596.
960. Shipe W. F. et al. *J. Dairy Sci.*, 1978, 61(7), 855–869.
961. Sieber R., Blanc B. *Deut. Molkerei-Ztg.*, 1978, 99, 240. Цит. по [885].
962. Siewert R. *Milchforschung-Milchpraxis*, 1979, №4, 83–84.
963. Siewert R. *Milchforschung-Milchpraxis*, 1989, №4, 101–103.
964. Silverman G. J., Kosikowski F. V. *J. Dairy Sci.*, 1953, 36, 574.
965. Simard R. E. et al. *DSA*, 1988, 50(6), 366.
966. Simonetti P. et al. *Ind. Alimentary*, 1982, 21(70), 536.
967. Sinell H. J. In: *«The microbial safety of food»*. London, Acad. press, 1973, 229–236.
968. Singh R. S. *Indian Dairyman*, 1979, 31(2), 101.
969. Singh R. S., Ranganathau B. *Indian J. Exp. Biol.*, 1975, 13(1), 96–98.

970. Singh V. K., Kristoffersen T. *J. Dairy Sci.*, 54(3), 349–354.
971. Sjostrom G. *XIV Inter. Dairy Congr.*, 1956, Rome, III-2, 562.
972. Skinner K. J. *Dairy Food Sanitation*, 1989, 9(1), 23–24.
973. Skovyaard N. et al. *J. Food Microbiol.*, 1988, 6(3), 229–242.
974. Slolory Y. L. et al. *DSA*, 1984, 46(8), 4779, 544.
975. Small R. G. et al. *J. Hygiene*, 1979, 82(1), 95–100.
976. Smiechowska M. et al. *Przem. spoz.* 1989, 45(7), 179–188.
977. Smiechowska M., Przubylawska P. *Milchwissenschaft*, 1994, 49(11), 619–622.
978. Smiechowska M., Przubylawska P., Kowalski B. *Polish J. Food Nutrition Sci.*, 1994, 3(3), 71–80.
979. Smiechowska M. et al. *Przem. spoz.*, 1989, 45(7), 179–188.
980. Smietana Z., Zuraw J. et al. *Milchwissenschaft*, 1984, 39(2), 117.
981. Smith D. A. et al. *DSA*, 1988, 50(6), 369.
982. Smith J. L., Buchanan R. L., Palumbo S. A. *J. Food Protect.*, 1983, 46(6), 545–555.
983. Snele S. et al. *J. Dairy Res.*, 1995, 62(1), 131–139.
984. Snelson J. T., Tuinstra L. G. M. Th. In: *«Chemical residues in milk and milk products». IDF*, 1978, A-Doc 39, 7–17.
985. Sohal et al. *J. Dairy Sci.*, 1988, 71, 3188.
986. Sommer S. *DSA*, 1995, 57(7), (4549).
987. Sommer S. *Schweiz. Milchztg*, 1995, 12(15).
988. Sorhaug T. *Milchwissenschaft*, 1981, 36, 137.
989. Sorhaug T., Ordal Z. *J. appl. Microbiol.*, 1974, 27, 607.
990. Sorrells K. M., Enigl D. C., Hatfield J. R. *J. Food Protect.*, 1989, 52(8), 571–573.
991. Sousa M. J., Malkata F. X. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, 45(1), 74–81.
992. Sozzi T. *DSA*, 1970, 32(3), 1242.
993. Sozzi T. et al. *Intervirology*, 1981, 16(3), 129–135.
994. Sozzi T. et al. *XIX Inter. Dairy Congr.*, 1974, 1 E, 443.
995. Sozzi T. *J. Dairy Res.*, 1978, 45(2), 259–265.
996. Sozzi T. *Le Lait*, 1972, 52, 454.
997. Sozzi T. *Milchwissenschaft*, 1972, №8, 503–507.
998. Sozzi T., Prella G. *DSA*, 1970, 32(2), 743.
999. Spahr U., Schutz M. *Milchwissenschaft*, 1990, 45(3), 145–148.
1000. Spahr U., Url B. Behaviour of pathogenic bacteria in cheese. *IDF*, F-Doc. 223 Suppl.
1001. Spangler P. L. et al. *Milchwissenschaft*, 1989, 44(4), 199–203.
1002. Speck M. L. *J. Dairy Sci.*, 1962, 45(10), 1281.
1003. Spillmann H. et al. *Milchwissenschaft*, 1987, №10, 672.
1004. Spillmann H., Bonhegyl M. *Schweiz. Milchwirtschaft*, 1984, №1–2, 14–12.
1005. Stackerbrandt E., Teuber M. *Biochimie*, 1988, 70(3), 317–324.
1006. Stadhouders J. *DSA*, 1968, 30(5), 1714.
1007. Stadhouders J. et al. *DSA*, 1984, 46(10), 797.

1008. Stadhouders J. et al. *Neth. Milk Dairy J.*, 1978, 32, 193.
1009. Stadhouders J. et al. *Neth. Milk Dairy J.*, 1982, 36(3), 231–260.
1010. Stadhouders J. et al. *Voedingsmiddelentechnologie*, 1983, 16(26), 20–23.
1011. Stadhouders J. *IDF*, 1990, Bull. №251, 37–39; 55–58; 59–60.
1012. Stadhouders J. *IDF*. Second cheese week. 1988, 9.
1013. Stadhouders J. *Meder. Ned. Inst. Zuivelonders*, 1968, 3.
1014. Stadhouders J. *Neth. Milk Dairy J.*, 1983, 37(4), 233–235.
1015. Stadhouders J. et al. *Neth. Milk Dairy J.*, 1978, 32, 193.
1016. Stadhouders J., Langeveld L. P. *XVII Inter. Dairy Congr.*, 1966, D2, 577–584. Цит. по [1748].
1017. Stadhouders J., Toepoel L., Wouters T. M. *Neth. Milk Dairy J.*, 1988, 42, 183–193.
1018. Stahouders et al. *Neth. Milk Dairy J.*, 1982, 36(3), 231–260.
1019. Stahouders J. et al. *Neth. Milk Dairy J.*, 1977, 31, 3.
1020. Stainer B. et al. *Veterinarski glasnik* (Beograd), 1979, 33, 102–112.
1021. Stamer J. R. *Food Technol.*, 1979, 33(1), 60–65.
1022. Stapelfeldt H. *Molkeritidente*, 1994, 107 (13–14), 316–317.
1023. Steffen C. *DSA*, 1976, 38(12), 856.
1024. Steffen C. *DSA*, 1981, 43(2). *Schweiz. Milchwirtsch. Forsch.*, 1980, 9(2), 19–27.
1025. Steffen C. et al. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology»*. V. 2, Major Cheese Groups. London etc., Chapman, Hall, 1993, 83–110.
1026. Steffen C. et al. *Schweiz. Milchwirtsch. Forsch.*, 1976, №5, 51–54.
1027. Steffen C. *IDF* Doc 126, 1980, 16.
1028. Steffen C. *Schweiz. Milchwirtsch. Forsch.*, 1979, 8(3), 44–48.
1029. Steiger G., Fluckiger E. *Schweiz. Milchwirtsch. Forsch.*, 1979, 8(3), 39.
1030. Stepaniak L. et al. *Milchwissenschaft*, 1981, №6, 376.
1031. Stephany R. W., Elgersma R. H. C., Schuller P. L. *Neth. Milk Dairy J.*, 1978, 32, 143.
1032. Sterkenburg A. et al. *Biochemie*, 1988, №3, 451–456.
1033. Stern N. J., Pierson M. D., Kotula A. W. *J. Food Sci.*, 1980, 45(4), 972–974.
1034. Stewart L. B. *XIX Intern. Dairy Congress*, 1974, 1E, 378–379.
1035. St-Gelais D., Piette M., Belanger G. *Milchwissenschaft*, 1995, 50(11), 614–619.
1036. Stocker W. *Deut. Molkerei Ztg.*, 1961, 7, 235–239.
1037. Stofer W., Hicks C.Z. *DSA*, 1983, 45(7), 525 (5055).
1038. Stojanovic E. et al. *Mlekarstvo*, 1087, 37(4), 99–106.
1039. Stolp H., Gadkare D. In: *«The Prokaryotes»*, 1981, v. 1, 719–741.
1040. Stone L. S. *J. Food Sci.*, 1985, №4, 557–960.
1041. Stopping Browing. *Dairy Record*, 1983, 84, 12.
1042. Strand O. M. et al. *Meijeriposten*, 1962, 53(1), 42–50; 53(4), 65–73; 53(5), 96–104; 53(6), 117–125; 53(7), 149–151; 53(8), 161–163.
1043. Stras B. *Medycina Weterynaryjna*, 1980, 36(6), 368–370.

1044. Streit K., Ruegg M., Blanc B. *Milchwissenschaft,* 1979, 34(8), 459–462.
1045. Streptococcus thermophilus in cheesemaking. *Dairy Foods*, 1986, 10, 138.
1046. Stublefield R. D., Shannon G. M. *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 1974, 57(4), 847–851.
1047. Stzalkowska-Domanska M. et al. *Milchwissenschaft,* 1981, №6, 376.
1048. Sudarsanam T. S. et al. *DSA*, 1987, 49(1), 54.
1049. Sullivan J. J., Klesener F. G., Jago G. R. *Aust. J. Dairy Technol.,* 1971, 26(3), 111–112.
1050. Sylvester K. *Medycina Weterynaryjna*, 1973, 29(11), 688–691.
1051. Sumner S. S. et al. *Appl. Envirron. Microbiol.,* 1985, 50(4), 1094–1096.
1052. Suzuki I. et al. *Milchwissenschaft,* 1991, 46(1), 635–639.
1053. Swart G. J. *DSA*, 1988, 50(5), 236.
1054. Swartling P. *Neth. Milk Dairy J.,* 1967, 21, 87–102. Цит. по [738].
1055. Swartling P. *Nordisk Mejeri–Tidsskrift*, 1958, 24(2) 30–32, (5), 71–73, 84.
1056. Swartling P. *Svenska Mejeritidningen*, 1960, №21, 259–263.
1057. Swartling P., Lodin L. O., Nilson S. *DSA*, 1955, 17(12), 1050.
1058. Sweeney K. *USA pat.,* 1995, US 5 395 631.
1059. Szumski S. A., Cone J. *J. Dairy Sci.*, 1962, 45, 349.
1060. Schuetz et al. *Milchwirtschaft*, 1990, 41(20), 678–681.
1061. Takacs J. et al. *Arch. Lebensmittelhyg.*, 1979, 30(2), 44–46.
1062. Tangney M. G. D., Condon S. *Irish J. Food Sci.,* 1986, 10, 160.
1063. Tatini S. R. et al. *J. Dairy Sci.*, 1971, 54(6), 815–825.
1064. Tatini S. R. et al. *J. Dairy Sci.*, 1973, 56, 429.
1065. Tatini S. R. et al. *J. Food Sci.*, 1975, 40(2), 352–356.
1066. Termi-Oleas, Coor R. M. *J. Dairy Sci.*, 1987, (Suppl. 1), 70.
1067. Terplan G. et al. *Arch. Lebensmittelhyg.*, 1986, 37(6), 131–137.
1068. Teuber M. *Food Rev. Int.*, 1993, 9(3), 389–409.
1069. Teuber M. *IDF*, B-Doc 119, 1985.
1070. Teuber M. *Ind. Latte*, 1988, 24(2), 23–28.
1071. Teuber M. *Kieler Milchwirtschaftl. Forschungsber,* 1981, №1, 59–66.
1072. Teuber M. *Milk the vital force.* XXII IDC, Hague, 1986, 75–81.
1073. Teuber M., Geis A. In: *«The Prokaryotes»*. v. II. Berlin – Heidelberg – New York, Springer-Verlag, 1981, 1614–1630.
1074. Teuber M., Lembke J. *Antonie van Leeuwenhoek.* 1983, 49, 283–295.
1075. Teuber M., Loof M. *Streptococal Genetics.* Washington, 1987, 250–258.
1076. Tezzaghi B. E. et al. *J. Gen. Microbiol.*, 1981, 122(2), 305–311.
1077. Thakar P. M. et al. *DSA*, 1988, 50(5), 237.
1078. Tham W. et al. *Nordisk Veterinaermedicin*, 1980, 32(7/8), 325-331.
1079. Tham W. et al. *Int. J. Food Microbiol.*, 1988, 7(2), 103–108.
1080. Thatcher F. S. Ross D. *Canad. J. Public Health*, 1960, 51(6), 226–234.
1081. Thaysen J., *Rinderwelt*, 1988, 13(3), 95–96.
1082. *Thesis, Institut fuer Hygiene und Technologie der Milch der Tieraerztlichen Hochschule*, Hannover, GFR, 1989, 95.

1083. Thim A. M., Hellstrom A., Edberg U. *DSA*, 1995, 57(9), (6028).
1084. Thomas S. B. *J. Soc. Dairy Technology*, 1974, 4, 180–189.
1085. Thomas T. D. *Milchwissenschaft*, 1979, 34(12), 765.
1086. Thomas T. D. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1987, 22(3), 215–219.
1087. Thomas T. D., Crow V. L. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1984, 48, 186.
1088. Thomas T. D., Crow V. L. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1983, 18(2), 131–141.
1089. Thomas T. D., Ellwood D. C., Longyear V. M. C. *J. Bacteriol.*, 1979, 136(1), 109–117.
1090. Thomas T. D., Mills O. E. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1981, 16, 43.
1091. Thomas T. D., Pearce K. N. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1981, 16, 253.
1092. Thomas T. D., Turner K. W., Crow V. L. *J. Bacteriol.*, 1980, 144(2), 672–682.
1093. Thompson T. L. et al. *Milchwissenschaft*, 1986, №2, 86–89.
1094. Thompson T. L. et al., *Milchwissenschaft*, 1986, №4, 201–205.
1095. Timmons P. et al. *J. Soc. Dairy Technol.*, 1988, 41(2), 49–53.
1096. Tinson W., Hillier A. J., Jago G.R. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1982, 36, 22.
1097. Tinson. W. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1982, 37(1), 8–13.
1098. Titini S. R. *J. Milk Food Technol.*, 1973, 36(11), 559.
1099. Tittsler G. P. et al. *J. Dairy Sci.*, 1948, 31(8), 716.
1100. Tolle A., Suhren G., Prokopek D. *Arch. Lebensmittelhyg.*, 1984, 35(5), 104–106.
1101. Toyovda S., Kukuchi T. *DSA*, 1985, 47(4), 262, (2280).
1102. Toyovda S., Kobayashi Y., Ahiko K. *Jap. J. Zootechn. Sci.*, 1990, 61(7), 599–605.
1103. Trieu-Cuot P., Gripon J.C. *J. Dairy Res.*, 1982, 49, 50.
1104. Troller J. A. *J. Milk Food Technol.*, 1976, 39(7), 499–502.
1105. Tropilo Jan. *Roz. Panct. Zakl. Hig.*, 1985, 36, 48.
1106. Tschager E. *Milchwissenschaft*, 1989, №11, 720; *North Europ. Food Dairy J.*, 1989, №7, 249–255.
1107. Tuckey M. E. *J. Dairy Sci.*, 1962, 45(5), 653.
1108. Turi R. M. et al. *Riv. Soc. Ital.Alim.*, 1988, 17(2), 99–102.
1109. Turkki T. et al. *DSA*, 1983, 45(8), 598.
1110. Turner K. W. et al. *XX Int. Dairy Congr.*, v. E. 1978, 525.
1111. Turner K. W., Martley F. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1983, 45(6), 1932–1934.
1112. Turner K. W., Thomas T. D. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1975, 10(4), 162–167.
1113. Turner K. W., Thomas T. D. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 1980, 15, 265–276.
1114. Tzanetacis N., Litopoulou Tzanetaki E. *J. Dairy Sci.*, 1989, 72(4), 859–863.
1115. UK Ministry Agriculture, Fisheries and Food. Steering Group on Feed Surveillance. Mycotoxins. *Food Surveillance Paper*, 1987, 18, 44.
1116. Upadhyay K. G. et al. *DSA*, 1986, 48(2), 133.
1117. Upadhyay K. G. et al. *Milchwissenschaft*, 1986, №10, 668.
1118. Update – Listeriosis and Pasterized Milk. *DSA*, 1990, 52(2), 116.
1119. Usajewich I. et al. *Milchwissenschaft*, 1981, №.4, 244.
1120. Ustinol Z., Hicka C. L. *J. Dairy Sci.*, 1987, 70, 65.

1121. Uysal Y. R., Kinik O., Akbulut N. *Ege univ. ziraat fak. derg.*, 1996, 33(1), 99–106.
1122. Vafopoulou A. et al. *J. Dairy Res.*, 1989, 56, 285–296.
1123. Vaitiekunas W., Abel H. *Agribiological Research*, 1993, 46 (20), 126–136.
1124. Valder Stauber N. *Milchwissenschaft*, 1990, 41(43), 1126–1130.
1125. Vanderied S. J., Woodburn M. J. *J. Food Protect.*, 1985, 48(11), 924–931.
1126. Veay P., Samson R. A. et Breton A. *Le Lait*, 1981, №607, 370–380.
1127. Vedamuthu E. R. et al. *J. Dairy Sci.*, 1967, 50(6), 944, 345.
1128. Vedamuthu E. R., Sandine W. E., Elliker P. R. *J. Dairy Sci.*, 1966, 49 (2), 144.
1129. Verdi R. J. et al. *J. Dairy Sci.*, 1988, 71, Suppl. 1, 110.
1130. Verdi R. J. et al. *J. Dairy Sci.*, 1985, 68, Suppl. 1, 59.
1131. Verwendung von Nitrat bei der Kaeseherstellung. *Deut. Molkerei-Zeitung*, 1989, Bd 110, №42, 1326–1330.
1132. Vilet T. van et al. *J. Dairy Res.*, 1989, 56, 520–534.
1133. Visser F. M. W. *Neth. Milk Dairy J.*, 1977, 31(4), 265–276.
1134. Visser F. M. W., Groot-Mostert A. E. A. *Neth. Milk Dairy J.*, 1977, 31(4), 247–264
1135. Visser F. M. W., *Neth. Milk Dairy J.*, 1977, 31(3), 210–239.
1136. Visser J. et al. *Neth. Milk Dairy J.*, 1986, 40, 351.
1137. Visser R. et al. *DSA*, 1984, 46(1–3), 145 (1264).
1138. Visser S. et al. *Neth. Milk Dairy J.*, 1983, 37(3), 181–192.
1139. Visser S. et al. *Voedingsmiddelentechnol.*, 1982, 15(22), 28–31.
1140. Vlaemynck G., Waes G. *Revue de l'Agriculture*, 1986, 39(5), 1119–1127.
1141. Vlegels P. A. P., Wouters J. T. M. *DSA*, 1986, 48(12), 854.
1142. Vries T. et al. *Zuivelzicht*, 1977, 69(9), 196–199.
1143. Waes G. *DSA*, 1989, 51(4), 177.
1144. Waes G. et al. *IDF*, 1990, Bull. №251, 47–50.
1145. Walker S. I., Gilmour A. *J. appl. Bacteriol.*, 1986, 61(2), 133–138.
1146. Walker S. J., Archer P. *J. appl. Bacteriol.*, 1990, 68(2), 157–162.
1147. Walstra P. et al. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology»*. V. 2. London etc., Chapman, Hall, 1993, 39–82.
1148. Walstra P., Dijk H. J. M. van, Geurts T. J. In: *«Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology»*. V. 1, General Aspects. London – New York, Elsevier Applied Sci., 1987, 135–177.
1149. Walstra P., Vliet T. van. *Neth. Milk Dairy J.*, 1986, 40, 241–259.
1150. Walstra P., Vliet T. van. *IDF*, 1982, Bull. №153, 22.
1151. Ware G. M., Thorpe C. W., Pohland A. E. J. *Assoc. Analyt. Chem.*, 1980, 63, 637.
1152. Wasserfall F., Proropek D. *Milchwissenschaft*, 1978, 33(5), 288–291.
1153. Wasserfall F., Voss E., Prokopek D. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungberichte*, 1976, 28(1), 3–18.
1154. Weber G. H., Broich W. H. *Cult. Dairy Prod. J.*, 1986, №4, 19–21; 23.
1155. Weber P. 1968, *Inaugurations Dissertation*, Univ. Bern.
1156. Weckbach L. S., Langlois B. E. *J. Food Protect.*, 1977, 40(12), 857–862.

1157. Wegazi F. Z. et al. *Nahrung*, 1987, 31(1), 19–26; 31(3), 225–232.
1158. Wegner H., Helmrich M. *Dtch. Milchwirt.*, 1969, 43, 2099–2101.
1159. Weltbewerb auf den EG-Agrarmarkten. *Molkerei Ztg.*: Welt Milch, 1992, 46(50), 1577–1578.
1160. Weniger Salz in Edamer. *Molkerei Ztg.*, 1992, 46, №37, 11.
1161. Wenzel J. M., Marth E. H. *J. Dairy Sci.*, 1989, 72 (Suppl.), 13.
1162. Wenzel J. M., Marth E. H. *Milchwissenschaft*, 1990, 45(12), 772–774.
1163. Wenzel J. M., Marth E. H. *J. Dairy Sci.*, 1990, 73(12), 335.
1164. Wessels D., Jooste P. J., Moster J. F. *Inter. J. Food Microbiol.*, 1989, 9(1), 79–83.
1165. Wilkinson J. M. Jr., *Agr., Soc.*, 1987, 148, 156–167.
1166. Willert D. L., Sandine W. E., Aures J. W. *Cult. Dairy Prod. J.*, 1982, 17(3), 5–9.
1167. Williams L. H., Ogden L. V. *J. Dairy Sci.*, 1991, 74(1), 8–10.
1168. Willpett D. L. *Diss. Abstr. Inter.* B. 1986, 46(11), 3725.
1169. Winkler S. *Milchwissenschaft*, Berichte Wolfpassing, 1952, №4, 145–154.
1170. Winterer H. *Molkereitechnik*, 1986, 73, 23–30; 32–33.
1171. Wiseman D. W., Marth E. H. *J. Food Protect.*, 1983, 46, 910.
1172. Wittwer E. *Thesis, Berne University*, Switzerland, 1978, 70.
1173. World Dairy Situation. *IDF*, Bull. №290/1993, 36.
1174. Wright P. W. *Cultural Dairy Products J.*, 1990, 25(2), 11–14.
1175. Wright P. W. *Cultural Dairy Products J.*, 1990, 25(3), 21–27.
1176. Yjadom-Farkye N. A. *DSA*, 1988, 50(12), 772.
1177. Yousef F. E. J., Marth E. H. *J. Dairy Sci.*, 1989, 72 (Suppl.1), 138.
1178. Yu J. H. et al. *J. Dairy Sci.*, 1975, 24(4), A155–A160.
1179. Zajac M. et al. *J. Food Protect.*, 1983, 46(12).
1180. Zangerl P. *Dtsch. Milchwirt.*, 1993, 44(19), 936, 938, 940.
1181. Zervaco C. et al. *Le Lait*, 1988, №4, 393–407.
1182. Ziokowski R., Goodman J. *Dairy Products*, 1985, 13(21), 15–17.
1183. Zoon P. et al. *Voedingsmiddelentechnologie*, 1991, 24, №1, 13–16.
1184. Zoon P., Vliet T. van, Walstra P. *Neth. Milk Dairy J.*, 1988, 42, 293–312.
1185. Zuraw J. *Milchwissenschaft*, 1987, №10, 671–672.
1186. *A. C. N 477715, СССР.* «Способ производства сыра Российский». Б. И., 1975, №27, 9.
1187. Адамс М. М., *«Бактериофаги»*. М., Иностранная лит., 1961, 537 с.
1188. Акатов А. К., Зуева В. С. *«Стафилококки»*. М., Медицина, 1983, 257 с.
1189. Алагезян Р. Г., Андриасян Б. В. В сб.: *«Новые исслед. по повышению качества и эффективности производства мол. продуктов»*. Каунас, 1977, 232–233.
1190. Алексеев В. Н. *«Процесс созревания сыров и пути его ускорения»*. М., ЦНИТИ пищевой пром., 1963, 79 с.
1191. Алексеев В. Н. М., *ЦНИИТЭИ мясомолпрома*, 1968, 31–33.
1192. Алексеев В. Н. *Мол. пром.*, 1960, №2, 37.
1193. Алексеев В. Н., Федин Ф. А. *Мол. пром.*, 1971, №6, 14–20.

1194. Алексеева К. П. *Мол. пром.*, 1962, №5, 40–41.
1195. Алексеева М. А. и др. Тез. докл. науч.-техн. конф. *«Повышение качества и эффективности производства натуральных сыров в районах Сибири и Дальнего Востока»*. Барнаул, Алтайский филиал ВНИИМС, 1979, 60–61.
1196. Алексеева М. А., Анищенко И. П. *Тез. докл. науч.-техн. конф.* Барнаул, Алтайский филиал ВНИИМС, 1974, 284–285.
1197. Алексеева М. А., Анищенко И. П., Климовский И. И. *Тез. докл. науч.-техн. конф.* Барнаул, Алтайский филиал ВНИИМС, 1974, 282.
1198. Алексеева М. А., Климовский И. И., Анищенко И. П. *Тез. докл. 2-ой науч.-техн. конф.* Барнаул, Алтайский филиал ВНИИМС, 1972, 181–183.
1199. Алексеева Н. Ю. и др. *«Состав и свойства молока как сырья для молочной промышленности. Справочник»*. Под редакцией Я. И. Костина. М., Агропромиздат, 1986, 239 с.
1200. Анищенко И. П. и др. М., Легкая и пищевая пром., *Тр. ВНИИМС «Технология и техника сыроделия»*, 1982, 76–78.
1201. Анищенко И. П. и др. *Тр. ВНИИМС «Интенсификация пр-ва сыров и улучшение их качества»*, 1984, 52–55.
1202. Аристова В. П., Алексеева Н. Ю., Фетисов Е. А. и др. В кн.: *«Состав и свойства молока как сырья для молочной промышленности. Справочник»*. Под редакцией Я. И. Костина. М., Агропромиздат, 1986, 25–88.
1203. Арица С., Ледда А., Делальо Ф. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 196–197.
1204. Асриян А. С. и др. *Матер. Всес. науч.-техн. конф.*, Ереван, 1989, 164–165.
1205. Атраментов А. Г., Атраментова В. Г. *Сб. науч. тр. ВНИИМС*, Углич, 1982, 3–6.
1206. Ахвердян В. З. и др. *Биотехнология*, 1992, №6, 40–45.
1207. Ахвердян В. З. и др. В кн.: *«Вклад науки в развитие маслоделия и сыроделия»*. Тез. докл. науч.-техн. конф., Углич, 1994, 207.
1208. Ахвердян В. З. и др. Там же, 209.
1209. Ахвердян В. З. и др. Там же, 214.
1210. Ахвердян В. З., Протасова И. С., Перфильев Г. Д. Там же, 213.
1211. Ахмед И., Римашевски Я., Полянски С. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 193–194.
1212. Бабушкина В. А. и др. *Тр. ВНИИМС «Достижения науки и практики сыроделия»*, Углич, 1988, 33–38.
1213. Багдасарян А. М. Ереван, Армянское гос. из-во, 1959, 240.
1214. Багдонайте Ж. *Тр. Лит. филиала ВНИИМС*, 1988, №22, 5–13.
1215. Банникова Л. А., Королева Н. С., Семенихина В. Ф. *«Микробиологические основы молочного производства. Справочник»*. М., Агропромиздат, 1987, 400 с.
1216. Барабанщиков Н. В. *«Качество молока и молочных продуктов»*. М., Колос, 1980, 255 с.
1217. Батистотти В., Бози Ф. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 202.

1218. Белов А. Н. и др. *Тр. ВНИИМС,* Углич, 1988, 38–43.
1219. Белов А. Н. и др. *Тр. ВНИИМС,* Углич, 1990, в. 54, 13–22.
1220. Белов А. Н., Уманский М. С. В кн.: *«Биол. микроорг. и их использование в нар. х-ве»*. Иркутск, 1977, 28–35.
1221. Белов А. Н. В кн: *«Биология микроорганизмов и их использование в народном хоз-ве»*. Иркутск, 1979, 62–65.
1222. Белова В. И. и др. *«Проблемы дезинфекции и стерилизации»*. М., 1977, Ч. 1, 17.
1223. Белова Г. А. и др. *«Технология сыра. Справочник»*. Под общей редакцией Г. Г. Шилера. М., Легкая и пищевая пром., 1984, 312 с.
1224. Белова Г. А. и др. *Тез. докл. науч.-техн. конф. «Вклад науки в развитие маслоделия и сыроделия»*. Углич, ВНИИМС, 1994, 220.
1225. Белова Г. А. и др. *Тр. ВНИИМС,* Углич, в. XXIV, 1978, 13–19.
1226. Белоусов А. П. *Мол. пром.*, 1950, №11, 38–39.
1227. Белоусов А. П. *Всес. конф. по мол. делу, посвященная 100-летию со дня рождения проф. Ав. А. Калантара.* Сб. докл. Ереван, Айгюхрат, 1961, 199–206.
1228. Белоусов А. П. *Мол. пром.*, 1949, №7, 20–23.
1229. Белоусов А. П. В кн.: *«Докл. Всесоюзной конф. по молочному делу»*. М., Гос. изд. с.-хоз. литер., 1958, 340–347.
1230. Белоусов А. П. Там же, 318–322.
1231. Белоусова Н. И., М., *ЦИНТИ пищепром*, 1961, 37.
1232. Бержер Ж.-Л. В кн.: *«Производство сыра: технология и качество»*. Пер. с фр. под ред. и с предисл. Г. Г. Шилера. М., Агропромиздат, 1989, 171–181.
1233. Бернатонис И., Рамонайтите Д., Битинене З. *Сб. науч. трудов Литовского филиала ВНИИМС*, Вильнюс, 1981, т. 15, 3–9.
1234. Билетова Р. В. и др. *«Санитарная микробиология»*. М., Пищевая пром., 1980, 352 с.
1235. Бирман С. Я. и др. *Тез. докл. 6 научн.-техн. конф.*, Каунас. Лит. филиал ВНИИМС, 1982, ч. 2, 75–76.
1236. Бирман С. Я., Уманский М. С. *Тр. ВНИИМС* «Биологические и физико-химические исследования в маслоделии и сыроделии». Углич, 1986, 29–35.
1237. Бобрышев А. А. *Автореф. канд. дисс.* Л., 1991, 16.
1238. Бондаренко В. М. и др. *Ж. микробиол., эпидемиол., иммунолог.*, 1986, №7, 28–32.
1239. Бондаренко В. М. и др. *Ж. микробиол., эпидемиол., иммунолог.*, 1986, №12, 12–15.
1240. Ботацци В. *XVII Межд. конгр. по мол. делу.* М., Пищевая пром., 1971, 269–270.
1241. Брендегаут Я., Лангеруд Т. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 206–207.

1242. Брио Н. П., Конокотина Н. П., Титов А. И. *«Технохимический контроль в молочной промышленности»*. М., Пищепромиздат, 1962, 254–255.
1243. Брюль Ж., Ленуар Ж. В кн.: *«Производство сыра: технология и качество»*. Пер. с фр. под ред. и с предисл. Г. Г. Шилера. М., Агропромиздат, 1989, 10–28.
1244. Бугль Д., Сталь В. *РЖ Химия*. 1994, 20Р1162.
1245. Будагян Ф. Е. *«Пищевые токсикозы, токсикоинфекции и их профилактика»*. М., Медицина, 1972, 216 с.
1246. Буткус К. Д., Бугрова В. И., Гасанов Н. Г. В кн.: *«Новые исследования по повышению качества и эффективности производства мол. прод.»*. Тез. докл. Каунас, Лит. филиал ВНИИМС, 1977, 176–177.
1247. Буткус К., Гасанов Н. Г., Буткене В. *Тр. Литовского филиала ВНИИМС*, 1980, в. 14, 110–114.
1248. Буткус Р., Буткус К., Буткене А. *Тр. Литов. пищ. инст.* Вильнюс, Академия, 1993, в. 27, 88–96.
1249. Вагнер В. А., Остроумов Л. А. В кн.: *«Интенсификация производства и повышение качества сыра»*. Тез. докл. науч.-техн. конф.. Барнаул, 1989, 10–11.
1250. Вайткус В., Любинскас В. *Тр. Лит. филиала ВНИИМС*, т. IV, 1969, 101–109.
1251. Вайткус В., Любинскас В., Мицкявичус Э. *XVIII Межд. мол. конгр. по мол. делу,* М., Пищевая пром., 1972, 208–210.
1252. Вебэр Ф., Ж.-П. Рамэ. В кн. *«Производство сыра: технология и качество»*. Пер.с фр. под ред. и с предисл. Г. Г. Шилера. М., Агропромиздат, 1989, 270–284.
1253. Вегепетян К. В., Тер-Казарян С. Ш. В сб. *«Интенсификация пр-ва и улучшение качества натуральных сыров»*. Тез. докл. к науч.-техн. конф., Барнаул, 1974, 309–311.
1254. Ведяшкин П. *Мол. пром.*, 1955, №6, 19.
1255. Винтила К. и др. *РЖ 04 Биология,* разд. Микробиология, санитар. и медицина, 1993, 2Б4126.
1256. Войткевич А. Ф. *«Микробиология молока и молочных продуктов»*. М., Пищепромиздат, 1948, 320 с.
1257. *«Вологодский молочно-хозяйственный институт, его история и современное состояние»*. Вологда, Северный печатник, 1928. 115.
1258. Вольфшон-Помбо А. Ф., Алан Ф., Клостермейер Х. *XXI Межд. мол. конгресс*. М., 1982, т. 1, кн. 2, 189.
1259. Воронцов М. З. *Известия Петровской земледельческой и лесной академии*. М.: Типография Лаврова и К°, год 3-ий, 1889, 51.
1260. Вязникова Е. Н. и др. *Тез. докл. к науч.-техн. конф. конф*. Барнаул, 1979, 70–71.
1261. Геешен В. Г. *Хранение и переработка сельскохозяйственного сырья*. 1995, №3, 22–39.
1262. Гейс А., Ринг Е., Тойбер М. *XXI Межд. мол. конгр*. Краткие сообщения. М., 1982, т. 1, кн. 2, 222.

1263. Гелслоот Т. И., Хассинг Ф., Стедхаудерс Дж. *XVII Межд. мол. конгр.*, 1971. М., Пищевая пром., 263–264.
1264. Гибшман М. Р. *Микробиол.*, 1938, т. VII, в. 7, 875.
1265. Гибшман М. Р. *Тр. ВНИИМС*, Углич, 1953, в. 2, 79–84.
1266. Гибшман М. Р., Аристова В. А., Дерябина Е. И. *Тр. ВНИИМС*, Углич, 1957, в. IV, 62–66.
1267. Гибшман М. Р., Белоусова Н. *Мол. пром.*, 1961, №12, 33.
1268. Гибшман М. Р., Белоусова Н. Н. В: *«Сб. рефератов научных работ»*, в. IV. М., Пищепромиздат, 1957, 58–62.
1269. Гибшман М. Р., Белоусова Н. Н. *Тр. ВНИИМС*, в. 2. М., Пищепромиздат, 1955, 41.
1270. Гизатулина С. С. и др. *Ж. микробиол., эпидемиол., иммунолог.*, 1988, №2, 13–17.
1271. Глаголев Ю. Ф. В кн.: *«Докл. Всесоюзной конф. по молочному делу»*. М., Гос. изд. с.-хоз. лит., 1958, 313–317.
1272. Гобетти и др. *РЖ Химия*, 1997, №2, 2Р182.
1273. Головков В. П. В кн.: *«Вклад науки в развитие маслоделия и сыроделия»*. Тез. докл. науч.-техн. конф., Углич, 1994, 4–9.
1274. Головня Р. В. и др. *Мол. пром.*, 1968. №2, 11.
1275. Головня Р. В. и др. *Мол. пром.*, 1970, №2, 8.
1276. Голубева И. И. и др. *«Энтеробактерии»*. М., Медицина, 1985, 321.
1277. Горбатова К. К. *«Биохимия молока и молочных продуктов»*. М., Легкая и пищевая пром., 1984, 344 с.
1278. Горбатова К. К., Молодцова Е. Л., Симкина П. И. *РЖ Химия*, 1989, 19, ч. 3, 12Р1208.
1279. Горбатова К. К. и др. В кн.: *«Применение холода для повышения качества пищевых продуктов»*. Л., 1988, 90–100.
1280. Горбунов А. В., Митин В. В., Усков В. И. *«Механизация и автоматизация мойки оборудования на предприятиях молочной промышленности»*. М., Пищевая промышленность, 1979, 111 с.
1281. Горелова Н. Ф. и др. В кн.: *«Вклад науки в развитие маслоделия и сыроделия»*. Тез. докл. науч.-техн. конф., Углич, ВНИИМС, 1994, 64–65.
1282. Горелова Н. Ф. и др. *Тр. ВНИИМС*, Углич, 1991, в. 56, 13–15.
1283. Гошев Г. Н., Гудков А. В. *Гигиена и санитария*, 1981, №3, 65–67.
1284. Грашкова М., Гернер Ф. *XXI Межд. мол. конгр.* М., 1982, т. 1, кн.1, 264.
1285. Григоров Н. И. и др. *Мол. пром.*, 1978, №7, 20–23.
1286. Григоров Н. И., Гудков А. В. *Мол. пром.*, 1977, №7, 18–21.
1287. Гриневич А. Г., Ермаков Л. Т. В кн.: *«Биол. микроорганизмов и их использование в нар. хоз.»*. Иркутск, 1977, 108–111.
1288. Гриц Н. И., Крюков А.Ф. *«Ресурсосберегающие технологии переработки продуктов животноводства»*. Минск, 1989, 130–132.
1289. Груев П. В., Симонова Е. Д. *Науч. Тр. Виеш. ин-т хранит. и вкус. пром-сти*, Пловдив, 1976, 23, №1, 21–32.

1290. Гудков С. А. и др. В кн.: «*Вклад науки в развитие маслоделия и сыроделия*». Тез. докл. науч.-техн. конф. Углич, 1994, 32.
1291. Гудков А. В. Биология споровых анаэробов, вызывающих порчу сыров. *Канд. дисс.*, Вологда, 1965.
1292. Гудков А. В. *Докл. науч. конф. по вопросам микробиол.* Вологда, Вологодский молочный инст., 1964, 31–39.
1293. Гудков А. В. и др. В кн.: «*Биология и техника сычужных и плавленых сыров*». *Тр. ВНИИМС*, Углич, 1989, 9–15.
1294. Гудков А. В. и др. В кн.: «*Научные основы консервирования растительных кормов*». М., Науч. центр биол. исслед. АН СССР в Пущине, 1976, 39–50.
1295. Гудков А. В. и др. В кн.: «*Производство молочных продуктов*». М., Пищ. пром., 1979, 132–162.
1296. Гудков А. В. и др. *Мол. пром.*, 1976, №5, 7–12.
1297. Гудков А. В. и др. *Мол. пром.*, 1979, №1, 13–17.
1298. Гудков А. В. и др. *Мол. пром.*, 1980, №10, 19–23.
1299. Гудков А. В. и др. *Мол. пром.*, 1981, №1, 39–41.
1300. Гудков А. В. и др. *Мол. пром.*, 1984, №4, 23–25.
1301. Гудков А. В. и др. *Мол. пром.*, 1987, №5, 19–22.
1302. Гудков А. В. и др. *Производство молока для сыроделия*. М., ЦНИИТЭИ, Обзорная информация, 1982, 16.
1303. Гудков А. В. и др. *Тез. докл. V республиканской научн.-техн. конф.* Каунас, 1979, 266–267.
1304. Гудков А. В. и др. *Тр. ВНИИМС*, Углич, в. XXI, 1977, 9–16.
1305. Гудков А. В. и др. *Тр. ВНИИМС*, Углич, в. XXX, 1979, 46–49.
1306. Гудков А. В. и др. *Тр. ВНИИМС*, Углич, в. XXX, 1979, 53–56.
1307. Гудков А. В. и Федин Ф. А. *Тр. ВНИИМС*, Углич, 1973, в. XI, 30–33.
1308. Гудков А. В. Микробиологические аспекты управления качеством сычужных сыров. *Дисс. на соискание ученой степени докт. тех. наук.* М., 1993, 61.
1309. Гудков А. В. *Прикл. биохимия и микробиол.* т. IV, 1968, в. 1, 60–67.
1310. Гудков А. В. *Тр. ВНИИМС*, Углич, «Новые исслед. в сырод.», 1982, 56–63.
1311. Гудков А. В., Белова Г. А., Уманский М. С. и Брацило Т. Е.. *Мол. пром.*, 1979, 6, 24–27.
1312. Гудков А. В., Григоров Н. И. *Мол. пром.*, 1977, №7, 18–21.
1313. Гудков А. В., Докукин В. М., Самойлова Л. И. *Тр. ВНИИМС*, Углич, в. XXX, 1979, 50–52.
1314. Гудков А. В., Звягинцев В. И., Бузов И. П. *Мол. пром.*, 1975, №9, 11.
1315. Гудков А. В., Анищенко И. П., Остроумов Л. А., Алексеева М. А.. *Мол. пром.*, 1980, №2, 13–17.
1316. Гудков А. В., Кандрина С. И. *Тез. докл. науч.-практич. конф.* Барнаул., 1979, 91–92.

1317. Гудков А. В., Остроумов Л. А., Одегов Н.И. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 224.
1318. Гудков А. В., Остроумов Л. А., Степанова Е. А., *Тр. ВНИИМС,* Углич, «Новые исследования в сыроделии», 1982, 68–73.
1319. Гудков А. В., Остроумова Т. Л. и Алексеев В. Н. *Тр. ВНИИМС,* Углич, «Биологические и физико-химические исследования в маслоделии и сыроделии». 1986, 12–17.
1320. Гудков А. В., Пак В. Д. *Тр. ВНИИМС,* Углич, в. XI, 1973, 47–53.
1321. Гудков А. В., Перфильев Г. Д. В кн.: «*Теоретические и методические основы изучения анаэробных микроорганизмов*». Пущино, АН СССР, 1978, 110–128.
1322. Гудков А. В., Перфильев Г. Д. В сб.: «*Достижения науки и практики сыроделия*». *Тр. ВНИИМС.* Углич, 1988, 16–33.
1323. Гудков А. В., Перфильев Г. Д. *Мол. пром.*, 1978, №1, 15–18.
1324. Гудков А. В., Перфильев Г. Д. *Мол. пром.*, 1980, №12, 18–21.
1325. Гудков А. В., Перфильев Г. Д. *Тр. ВНИИМС,* Углич, в. XI, 1973, 30–35.
1326. Гудков А. В., Перфильев Г. Д. *Тр. ВНИИМС,* Углич, в. XXX, 1979, 35–37.
1327. Гудков А. В., Перфильев Г. Д., Остроумова Т. Л. *Мол. пром.*, 1984, №7, 21–24.
1328. Гудков А. В., Перфильев Г. Д., Сорокина Н. П., Докукин В. М. *Мол. пром.*, 1984, №8, 8–10.
1329. Гудков А. В., Перфильев Г. Д. *Мол. пром.*, 1980, №12, 18–21.
1330. Гудков А. В., Федин Ф. А. *Мол. пром.*, 1978, №10, 20–23.
1331. Гудков А. В., Шергин Н. А., Перфильев Г. Д. *Прикл. биохимия и микробиол.*, 1985, XXI, в. 5, 617–623.
1332. Гудков А. В., Эрвольдер Т. М. В кн.: «*Вклад науки в развитие маслоделия и сыроделия*». Тез. докл. науч.-техн. конф., Углич, ВНИИМС, 1974, 171–172.
1333. Гудков А. В., Перфильев Г. Д. *Тр. ВНИИМС*, 1988, 18–33.
1334. Гудков С. А. и др. Там же, 32.
1335. Гудков С. А. и др. Там же, 36.
1336. Гудков С. А. и др. *Тез. докл. науч.-техн. конф. «Вклад науки в развитие маслоделия и сыроделия»*. Углич, 1994, 33–34.
1337. Гудков С. А. *Канд. дисс.*, Углич, 1986, 160.
1338. Гудкова М. Я. *Канд. дисс.*, Углич, 1989.
1339. Давей Г. П., Пирс Л. Е. *XXI Межд. мол. конгр.* Краткие сообщения. М., 1982, т. 1, кн. 2, 209.
1340. Давидов Р. Б. «*Молоко и молочное дело*». М., Колос, 1973, 256.
1341. Давидов Р. Б. *Сб. докл. межвуз. конф. по мол. делу.* Ереван, Айастан, 1971, 319–322.
1342. Дахайя Р. С., Спек М. Л. *XVII Межд. конгр. по мол. делу.* М., Пищевая пром., 1971, 245–246.
1343. Дерябина Е. Н. *Микробиол.*, 1953, XXII, в. 4, 452–455.

1344. Джанг В. и др. *РЖ Химия,* 1991, 19, 3Р1246.
1345. Диланян З. Х. *Мол. пром.*, 1968, №8, 31.
1346. Диланян З. Х., Доильницин Г. В. *Мол. пром.*, 1970, №8, 18.
1347. Диланян З. Х., Тер-Казарян С. Ш., Вегапетян К. В., Джапаридзе И. И.. *Мол. пром.*, 1983, 10, 19–20.
1348. Диланян З. Х., Саакян Р. В. М., *ЦНИИТЭИмясомолпром*, 1976, №10, 27.
1349. Диланян З. Х. *Классификация сыров. Методические указания к курсу «Сыроделие» по специальности 1017.* Ереван, Ереванский зоотехническо-ветеринарный институт, 1984, 20 с.
1350. Дит Х. К. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 211–212.
1351. Добровольский В. М. *Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунол.,* 1976, №10, 144.
1352. Догель Л. З., Карплюк И. А. *Вопросы питания*, 1984, №3, 3–6.
1353. Докукин В. М. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 212.
1354. Докукин В. М. и др. *Тр. ВНИИМС,* Углич, в. XXIII, 1978, 8–12.
1355. Докукин В. М. *Тр. ВНИИМС,* Углич, «Новые исследования в сыроделии», Углич, 1982, 87–91.
1356. Докукин В. М., Гудков А. В. В: сб. научн. трудов *«Техника и технология сыроделия»*. М., Легкая и пищевая пром., 1982, 52–56.
1357. Долгих Т. Г. В кн.: *«Биох. и технол. процессы в пищевой пром.»*. Улан-Удэ, 1978, №2, 172–174.
1358. Долгих Т. В. Выделение и характеристика бычьего пепсина и исследование возможности его использования в сыроделии. *Автореф. канд. дисс.*, М., 1972, 22.
1359. Долежалек Г., Горки Й. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1. 301–302.
1360. Долежалек Дж. и др. *XVIII Межд. мол. конгр. по мол. делу*. М., Пищевая пром., 1972, 246.
1361. Домбровский А. М., Будягина А. В. *Ж. микробиол., эпидемиол., иммунол.*, 1986, №12, 38–43.
1362. Доценко В. А. др. *Вопросы питания*, 1994, №.6, 25–27.
1363. Дремкова И. И. Тез. докл. к научн.-техн. конф. *«Интенсификация производства и повышение качества сыра»*. Барнаул, 1989, 97–99.
1364. Дудник П. Н, Табачников В. П. *Тр. ВНИИМС*. М., Пищевая пром., 1974, в. XVII, 7–16.
1365. Дулова В. и др. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 214.
1366. Дунченко Н. Н. и др. В кн.: *«Современная технология сыроделия и безотходная переработка молока»*. Материалы Всесоюзной научно-техн. конф., Ереван, Айастан, 1989, 192–193.
1367. Дьяченко М. *Харч. і перероб. пром.*, 1996, №11, 90.
1368. Дьяченко П. Ф. и др. *«Технология молока и молочных продуктов»*. М., Пищепромиздат, 1974, 335 с.
1369. Дьяченко П. Ф., Шидловская В. П. *Мол. пром.*, 1968, №1, 10.
1370. Дьяченко П. Ф., Шидловская В. П. *Тр. ВНИМИ*, 1970, 27, 9–15.

1371. Дэвойо Ж. Ж., Брэт Г. *XVII Межд. конгр. по молочному делу*. М., Пищевая пром., 1971, 226–228.
1372. ЕЕС: качество молока. АПК: Экономика, управление, 1989, №5,75.
1373. Елисеева Н. Н., Шилер Г. Г., Чеботарев Л. Н. В кн.: «*Вклад молодых специалистов в повышение качества и эффективности производства в маслоделии и сыроделии*». Ярославль, ВНИИМС, 1978, 107–108.
1374. Елкин И. И., Крашенинников О. А. «*Дизентерия*». М.: Медицина, 1975, 691 с.
1375. Ельцова М. В. *Сб. докл. Всесоюз. конф. по мол. делу, посвященной 100-летию со дня рождения проф. Ав. А. Калантара*. Ереван, 1961, 314–317.
1376. Еремин В. Н. *Мол. пром.*, 1995, №6, 14–16.
1377. Еремина В. И., Гудков А. В. *Тр. ВНИИМС*, Углич, 1979, в. XXX, 42–45.
1378. Жабо Г. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 315.
1379. Жданов И. Н., Колодкин Ю. А. В кн.: «*Селекция микроорганизмов*». Иркутск, 1978, 68–73.
1380. Забодалова Л. А., Паткуль Г. М. *XXI Межд. молочный конгр.* Краткие сообщения. т. 1, кн. 1. М., 1982, 211.
1381. Заборских Е. И., Гриневич А.Г. В кн: «*Биология и селекция микроорганизмов*». Иркутск, Госуниверситет, 1973, 87–95.
1382. Загаевский И. С. *Ветеринария*, 1968, №8, 89.
1383. Зайковский Я. С. *Тр. ВМХИ*, Вологда, 1925, Бюлл. №51, 14.
1384. Захарова Н. П. Физико-химические основы процесса производства плавленых сыров. *Докт. дисс.*, М. 1992.
1385. Звягинцев В. И. и др. *Мол. пром.*, 1971, №2, 19–22.
1386. Звягинцев В. И. и др. *Мол. пром.*, 1974, №9, 15–17.
1387. Звягинцев В. И. и др. *Прикл. биохимия и микробиол.*, 1971, в. 7, 51, 199–194.
1388. Иванов В. Л.и др. В кн: «*Интенсификация производства и повышение качества сыра*». Тез. докл. к научн.-техн. конф. Барнаул, 1989, Алтайский филиал ВНИИМС, 51–53.
1389. Иенсон Г., Мюллер-Мадсен А. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 109–110.
1390. Илюшкин В. С. *Автореф. канд. дисс.*, Л., 1976, 26.
1391. Инихов Г. С. *Тр. ВМХИ*, Вологда, 1923, т. II, в. 3, 111–125.
1392. Инсолене Р., Сухоцкене Й. Й., Лажаускайте Д. *Тр. Литовского филиала ВНИИМС*, 1986, в. 20, 40–50.
1393. Инструкция по микробиологическому контролю производства на предприятиях молочной промышленности. М., 1988.
1394. Инструкция по порядку и периодичности контроля за содержанием микробиологических и химических загрязнителей в молоке и молочных продуктах на предприятиях молочной промышленности. М., Министерство сельского хозяйства и продовольствия Российской Федерации, 1995, 67 с.

1395. Боккельман И. фон. *XVIII Межд. мол. конгр. по мол. делу*. М., Пищевая пром., 1972, 63–64.
1396. Каган Я. Р. и др. Тез. докл. к научн.-техн. конф. *«Интенсификация пр-ва и повышение качества сыра»*, Барнаул, 1989, 148–150.
1397. Каган Я. Р. и др. *Тез. докл. научн.- техн. конф.* ч. 2. Каунас, 1982, 82–83.
1398. Каган Я. Р. *Тр. ВНИИМС* «Биохимические исследования и совершенствование технологии сыров». Углич, 1985, 50–54.
1399. Каган Я. Р., Чистякова Н. Я. В кн.: *«Биол. микроорганизмов и их использование в нар. хоз-ве»*. Иркутск, 1981, 32–35.
1400. Кадис В. У. *Материалы XXI Межд.молоч. конгр.* М., Агропромиздат, 1985, 247.
1401. Кайрюкштене И. В кн: *«Тез. докл. науч.-техн. конф., посвященной 100-летию Ярославского промышленного сыроделия»*. Ярославль, 1970, 26–28.
1402. Калина Г. П. *«Сальмонеллы в окружающей среде»*. М., Медицина, 1978, 160.
1403. Калина Г. П. *Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунолог.*, 1985, №5, 91–98.
1404. Калюжин М. Г. *Мол. пром.*, 1971, №8, 8–9.
1405. Кандрина С. И. Совершенствование технологии российского сыра с целью повышения его качества. *Канд. дисс.*, Углич, 1983, 142.
1406. Карапетян С. Ц., Диланян З. Х., Саркисян Р. А. *Пром. Армении*, 1981, 4, 41–49.
1407. Карликанова С. Н., Гудков А. В. *Мол. пром.*, 1969, №2, 6–9.
1408. Карликанова С. Н. Там же, 178–179.
1409. Карликанова С. Н. *Тр. ВНИИМС*, Углич, 1977, в. XXI, 5–9.
1410. Карликанова С. Н., Гудков А. В. *XVIII Межд. мол. конгр.* М., Пищевая пром., 1972, 251.
1411. Карликанова С. Н., Куваева И. Б. *Тез. докл. науч.- техн. конф.*, Углич, ВНИИМС, 1994, 182.
1412. Карликанова С. Н., Куваева И. Б., Карликанова Н. Р. *Тез. докл. науч.-технич. конф.*, Углич, ВНИИМС, 1994, 20–21.
1413. Карликанова С. Н., Немирова В. С., Скорнякова Г. И. Там же, 13–14.
1414. Карликанова С. Н., Немирова В. С., Скорнякова Г. И. Там же, 17–19.
1415. Карминати Д. и др. *РЖ Биология*, 1990, №1, 107.
1416. Карплюк И. А. и др. *Вопросы питания*, 1985, №6, 57–59.
1417. Карпычев С. В. *Автореф. канд. дисс.*, М., 1986, 21.
1418. Карцев В. В. *Вопросы питания*, 1987, №6, 72–73.
1419. Катона Ф. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 111.
1420. Кауфманн В., Хагемайстер Х., Люппинг В. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 61.
1421. Кашнер Д. В кн. *«Жизнь микробов в экстремальных условиях»*. М., Мир, 1981, с. 365–425.

1422. Квасников Е. И., Нестеренко О. А. «*Молочнокислые бактерии и пути их использования*». М., Наука, 1975, 389 с.
1423. Кеог М. К., Кеннеди Р. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 232.
1424. Керимов Г. Г. *Мол. пром.*, 1970, №11, 45.
1425. Кестли П. *Тр. XIII Межд. конгр. мол. дела*, 1965, т. II, 27–34.
1426. Кикуши Т. *XVII Межд. мол. конгр.*, М., Пищевая пром., 1971, 247–249.
1427. Кикуши Т., Такафуи С. *XVIII Межд. конгр. по мол. делу*. М., Пищевая пром., 1972, 252–253.
1428. Кирюткин Г. В., Молочников В. В. «*Мойка и дезинфекция технологического оборудования предприятий молочной промышленности*». М., Пищевая промышленность, 1976, 120 с.
1429. Климовский И. И. «*Биохимические и микробиологические основы производства сыра*». М., Пищевая пром., 1966, 207 с.
1430. Климовский И. И. *Мол. пром.*, 1968, №3, 8–10.
1431. Климовский И. И., Гудков А. В., Звягинцев В. И. и Калинина Г. А. *Тез. докл. науч.-техн. конф., посвященной 100-летию ярославского пром. сыроделия*. Ярославль, 1970, 47–51.
1432. Климовский И. И., Алексеева К., Чекалова К. *Мол. пром.*, 1965, №2, 16–18.
1433. Климовский И. И., Звягинцев В. И., Гудков А. В. *Мол. пром.*, 1969, №5, 26–32.
1434. Климовский И. И., Звягинцев В. И., Гудков А.В. *Мол. пром.*, 1969, №6, 10–14.
1435. Климовский И. И., Алексеев В. Н., Табачников В. П. «*Исследование факторов формирования консистенции сыра и разработка методов ее улучшения*». Углич, ВНИИМС, 1966.
1436. Климовский И. И. *Тр. ВНИИМС*, 1955, М., в.2, 3.
1437. Книга М. И. *Докл. ВАСХНИЛ*, 1966, №9, 24–29.
1438. Кожевников И. *Мол. пром.*, 1954, №7, 29–33.
1439. Ком Г. и др. *РЖ Химия*, 19, ч. 3, 1990, 18Р1045.
1440. Кондратенко М. С. *Научные тр. Института мол. пром.*, г. Видин, 1981, 207–219.
1441. Конноли Дж. Ф. и др. *XXI Межд. мол. конгр.* М., 1982, т. 1, кн. 1, 172–173.
1442. Коноплева Е. *Мол. пром.*, 1953, №7, 27–30.
1443. Коноров Г. *Мол. пром.*, 1966, №6, 38.
1444. Королев С. А. *Мол. пром.*, 1948, №5, 18–19.
1445. Королев С. А. «*Основы технической микробиологии молочного дела*». М., Пищевая пром., 1976, 344 с.
1446. Королева Н. С. «*Техническая микробиология цельномолочных продуктов*». М., Пищевая пром., 1975, 271 с.
1447. Королева Н. С. и др. *Мол. пром.*, 1978, №3, 6–9.
1448. Королева Н. С., Семенихина В. Ф. «*Санитарная микробиология молока и молочных продуктов*». М., Пищевая пром., 1980, 255 с.
1449. Кочанов Г. *Мол. пром.*, 1949, №10, 43.

1450. Краткий определитель бактерий Берги. 8-ое изд. М., Мир, 1980, 495 с.
1451. Краюшкин В. А. и др. *Тр. ВНИИМС*, Углич, 1990, в. 54, 73–78.
1452. Краюшкин В. А. *Автореф. канд. дисс.*, Л., 1982, 18.
1453. Кречман Н. И. и др. *Тр. ВНИИМС*, Углич, 1973, в. XII, 20–23.
1454. Кречман Н. И., Табачников В. П. *Тр. ВНИИМС*, М., 1978, Пищ. пром., в. XXIII, 46–49.
1455. Кроль С., Клостермайер Х. *XXI Межд. мол. конгр.* М., 1982, кн. 2, 238–239.
1456. Крсев Л. *РЖ ХИМИЯ*, ч. 3. 1989, 15Р1243.
1457. Крупин Г. В. *Мол. пром.*, 1970, №4, 46.
1458. Куваева И. Б., Карликанова Н. Р., Лукина И. Б. *Вопросы питания*, 1994, №4, 29–31.
1459. Куваева И. Б., Карликанова С. Н. *Тез. докл. науч.- техн. конф.*, Углич, ВНИИМС, 1994, 184.
1460. Кувалдина Н. Ф. *Канд. дисс.*, Углич, 1998, 149.
1461. Кувалдина Н. Ф., Гудков А. В., Смыков И. Т. *Тез. докл. Междунар. науч.-техн. конф.* Минск, 1996, ч. 1, 39–40.
1462. Кувалдина Н. Ф., Гудков А. В., Сорокина Н. П. *Тез. докл. Всероссийской науч.-техн. конф.* Ставрополь, 1996, 132–133.
1463. Кузин А. А. Психротрофная микрофлора молока, ее влияние на качество сыра, способы регулирования. *Канд. дисс.*, Углич-Вологда, 1994, 140
1464. Кузин А. А., Гудков А. В., Шергин Н. А. *Мол. пром.*, 1992, №6, 19–22.
1465. Кузин А. А., Гудков А. В., Шергин Н. А. *Мол. пром.*, 1992, №5, 31–34.
1466. Кузнецов Е. С. и др. *Тр. ВНИИМС*, М., Пищевая пром., 1974, в. XVII, 56–62.
1467. Кузькин Б. П. 1979, *канд. дисс.*, 174.
1468. Кулиев Н. Д. *Мол. пром.*, 1985, №4, 44–45.
1469. Куликовский А. В., Джентемирова К. М. *Холодильная техника*, 1988, №8, 43–45.
1470. Купер Г. Р., Мартлей Ф. Г. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 355.
1471. Лайпанов И. З. *Тез. докл. к науч.-техн. конф.* Барнаул, Алтайский филиал ВНИИМС, 1989, 120.
1472. Ламберт Г. *XVIII Межд. конгр. по молочному делу*. М., Пищевая пром., 1972, 92–93.
1473. Ламберт Г. и др. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., Пищевая пром., 1982, т. 1, кн. 2, 242.
1474. Лахт Т. И., Вилу Р. О. В кн.: «*Интенсификация производства и повышение качества сыра*». Тез. докл. науч.-техн. конф.. Барнаул, 1989, 49–50.
1475. Лахт Т. И., Вилу Р. О. Там же 41–43.
1476. Ле Барс Д., Вассал Л., Ж. Грийо. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 375.
1477. Лембке Е., Тойбер М. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2. 246.

1478. Лембке Ф., Тойбер М. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 375–376.
1479. Ленуар Ж., Оберже Б. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., Пищевая пром., 1982, т. 1, кн. 2, 243 и 246–247.
1480. Ленуар И., Шуази К., Оберже Б. *XVIII Межд. конгр. по молочному делу*. М., Пищевая пром., 1972, 93.
1481. Либудзиш З., Пяткевич А., Оберманн Х. *XXI Межд. мол. конгр., М.*, 1982, т. 1, кн. 2, 401.
1482. Лимсоутин Дж. К. И., Хиап Х. А., Лауренс З. С. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1. 324.
1483. Липинская Е., Гудков А. В., Карликанова С. Н. *«Применение низина в сыроделии»*. М., Пищевая пром., 1972, 95 с.
1484. Лобанова И. И. *Мол. пром.*, 1968, №12, 11–14.
1485. Лобанова И. И. *Мол. пром.*, 1969, №2, 18–21.
1486. Лобанова И. И. *Мол. пром.*, 1977, №9, 13–15.
1487. Лобанова И. И. *Мол. пром.*, 1968, №3, 8–10.
1488. Лоди Р. и др. *РЖ Биология*, 1994, 2Б2076.
1489. Лоди Р. и др. *РЖ Химия*, ч. 3, 1989, 4Р1397.
1490. Лой Б. *XXI Межд. мол. конгр., т. 1, кн. 2, М.*, 1982, 245.
1491. Ломунов А. А., Сапрыгин Г. П. В кн.: *«Докл. Всесоюз. науч. конф. по молочному делу»*, М., Госиздат. с.-хоз. лит., 1958, 435–440.
1492. Лоури Р. *ЭИ «Мясн. и мол. пром.»* 1977, №45, 18–23.
1493. Луковникова Л. *Мол. пром.*, 1965, №11, 38–40.
1494. Лучански Дж. и др. *РЖ Биология*, 1993, 7Б4072.
1495. Льюис Дж. Э. *Мол. пром.*, 1959. №12, 13–17.
1496. Любинскас В. П., Вайткус В. В. *Мол. пром.*, 1973, №5, 17–19.
1497. Любинскас В., Вайткус В. *Тр. Лит. филиала ВНИИМС*, 1973, в. VIII, 41–45.
1498. Любинскас В., Вайткус В. *Тр. Лит. филиала ВНИИМС*, 1970, в. V, 87–96.
1499. Лювен Г. Дж. ван. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 326.
1500. Магакьян Дж. Е. и др. В кн.: *«Актуальные пробл. перераб. молока и пр-ва молоч. прод.»*, Вологда, 1989, 125–126.
1501. Магакьян Дж. Т. и др. *Прикл. биохимия и микробиол.*, 1976, т. XII, в. 2, 253–258.
1502. Маейр Д., Донелли С. *РЖ Химия*, 1992, 6Р1228.
1503. Майо Х. и др. *XXI Межд. молоч. конгр. Краткие сообщения*. М., 1982, т. 1, кн. 2, 431.
1504. Макарова А. П. *Канд. дисс.*, Иркутск, 1975, 114.
1505. Макарьин А. М. *Мол. пром.*, 1952, №2, 36–38.
1506. Макарьин А. М. *Мол. пром.*, 1957, №4, 41.
1507. Макарьин А. М. *Мол. пром.*, 1960, №3, 9–22.
1508. Макарян К. В. и др. *Промышленность Армении*, 1986, №5, 55–56.
1509. Маненкова А. И. и Белова Г. А. *Мол. пром.*, 1965, №5, 42–43.

1510. Матц С. А. *«Структура и консистенция пищевых продуктов»*. М., Пищевая пром., 1972, 239 с.
1511. Медико-биологические требования и санитарные нормы качества продовольственного сырья и пищевых продуктов. М., Издательство стандартов, 1990, 186 с.
1512. Мельникова Л. В., Уманский М. С. *Тез. докл. к науч.-техн. конф. «Интенсификация производства и повышение качества сыра»*. Барнаул, 1989, 189–193.
1513. Менькин В. К., Ярошевич А. П. В кн.: *«Повышение эффективности использования НИОКР на мясо-молочных предприятиях в новых условиях хозяйствования»*. Тез. докл. VIII науч.-техн. конф. Каунас, Лит. филиал ВНИИМС, 1988, 48–49.
1514. Мике-Зинко М., Бабелла Г. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 253–254.
1515. Милз О. Э., Томас Т. Д. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 383–384.
1516. Миллен В. М. А., Кроуфорд Р. Дж. М. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 247–248; 249.
1517. Миллер Г. А., Фрайер Т. Ф. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 383.
1518. Миллет Дж. *РЖ Химия*, 19. ч. 3, 1989, 15 Р1262.
1519. Миллс О. Е., Томас Т. Д. *XXI Межд. мол. конгр.* М., 1982, т. 1, кн. 2, 254–255.
1520. Минаржик Р. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 384.
1521. Минор Т. Е., Март Е. Х. *«Стафилококки в пищевых продуктах»*. М.: Пищевая пром., 1980, 232 с.
1522. Мироненко И. М., Майоров А. А., Уманский М. С. *Тр. ВНИИМС*, Углич,, 1989, 96–100.
1523. Михлин Э. Д., Хандак К. Р., Гудков А. В. *Прикл. биохимия и микробиол.*, 1973, т. IX, в. 6, 857–872.
1524. Моисеева Е. Л. *«Микробиология молока и молочных продуктов при холодильном хранении»*. М.: Агропромиздат, 1988, 222.
1525. Моисеева Е. Л., Мишучкова Л. А., Шаблий О. М. *Мол. пром.*, 1976, 1, 11.
1526. Морина Г. В. Аминообразующая способность молочнокислых бактерий закваски как фактор формирования качества костромского сыра. *Канд. дисс.* 1989. Л., ЛТИХП, 187.
1527. Морина Г. В., Козлова В. М. *Сб. научн. тр. ВНИИМС*. Углич, 1986, 113–117.
1528. Морозова Р. Р. Исследование процессов выработки и созревания горного сыра с целью улучшения его качества. *Автореф. канд. дисс.*, Кемерово, 1995, 18.
1529. Мотина Г. Л. и др. *Хим.-фармац. журнал*, 1983, №4, 470–475.
1530. Мурунова Г. В., Климовский И. И. *Мол. пром.*, 1982, 6, 32–33.

1531. Мытник Л. Г., Банникова Л. А., Боброва Л. В. *Мол. пром.*, 1978, №7, 17–19.
1532. Мэннинг Д. Ж., Прайс Дж. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 379.
1533. Налбандян Г. М., Айвазян С. М. *«Соврем.технол. сыроделия и безотход. перераб. молока: материалы Всес. научн.-техн. конф.»*, Ереван, 1989, 207–208.
1534. Наркявичюс Р. *Тез.докл. отраслевого семинара*. Каунас, 1985, 94.
1535. Неберт В. К. и др. *Сб. науч. тр. ВНИИМС*. Углич, 1987, 10–25.
1536. Неберт В. К., Горелова Н. Ф. *Тр. ВНИИМС* «Биотехнология и техника сычужных и плавленых сыров». Углич, 1989, 68–73.
1537. Неберт В. К., Табачников В. П., Гарагуля Е. Е. *Тр. ВНИИМС*, Углич, в. XXI, 1977, 39–46.
1538. Неберт В. К., Делицкая И. Н. Там же, 60–67.
1539. Николаев А. М. *«Технология мягких сыров»*. М., Пищевая пром., 1980, 213 с.
1540. Николаев А. М. *Мол. пром.*, 1949, №6, 45–46.
1541. Николаев А. М., Неберт В. К., Сахаров С. Д. В кн.: *«Технология сыра»*. Справочник. Под ред. Г. Г. Шилера. М., Легк. и пищевая пром., 1984, 269–295.
1542. Нильсен Е. В. и др. *XXI Межд. мол. конгр.* М., 1982, т. 1, кн. 2, 169.
1543. Носкова Г. Л., Пек Г. Ю. *«Влияние вакуума на микрофлору охлажденных пищевых продуктов»*. М., Горторгиздат, 1963.
1544. Обермайер О. *XXI Междунар. молоч. конгр.* М., 1982, т. 1, кн. 2, 420.
1545. Обретенова М., Люцканов Н. *РЖ Химия*, 1997, №1, 1Р1180.
1546. Ованова Т. Г. *Автореф. канд. дисс.*, М., 1970, 18.
1547. Ованова Т. Г., Гудков А. В. *Тр. ВНИИМС*, Углич, 1973, т. X, 41–46.
1548. Озола Л. Ю. *Мол. пром.*, 1972, №6, 38–40.
1549. Оноприйко А. В., Оноприйко В. А. *«Аналитические методы и органолептическая оценка качества сыра и масла»*. М., АгроНИИТЭИММП, 1993, 36 с.
1550. Оноприйко А. В., Оноприйко В. А. *«Аналитические методы и органолептическая оценка качества сыра и масла»*. М., АгроНИИТЭИММП, 1993, 36 с.
1551. Оноприйко А. В. *Автореферат докт. дисс.* М., 1998, 44.
1552. Определитель бактерий Берджи. 9-ое изд. В 2 томах, М., Мир, 1997.
1553. Орт А. *XVI конгр. по мол. делу*. М., Пищепромиздат, 1963, 13–14.
1554. Остроумов Л. А. и др. *Тр. ВНИИМС* , Углич, в. 23, 1978, 100–104.
1555. Остроумов Л. А. и др. *Тр. ВНИИМС* , Углич, в. 23, 1978, 13–16.
1556. Остроумов Л. А., Алексеева М. А., Бабушкина В. А. *Мол. пром.*, 1977, №12, 11–13.
1557. Остроумов Л. А., Андреев А. Н. *Тр. ВНИИМС* , в. XVI, М., Пищевая пром., 1974, 53–56.

1558. Остроумов Л. А., Бабушкина В. А. и Гудков А. В. *Тр. ВНИИМС*, в. XXI. М., Пищ. пром., 1977, 50–53.
1559. Остроумов Л. А., Отт Е. Ф., Шлегель А. Н. *Тр. ВНИИМС* «Технология и техника сыроделия». М., Легкая и пищевая пром., 1982, 72–75.
1560. Остроумова Т. А., Прошкина Т. Г., Юрьев Н. Р. *Мол. пром.*, 1979, №6, 14–16.
1561. Остроумова Т. Л. *Дисс. канд. техн. наук*, Углич, 1987, 160.
1562. Остроумова Т. Л. и Алексеев В. Н. *Тр. ВНИИМС*, Углич, 1988, 43–48.
1563. Пайенс Т. А. *XXI Международный молочный конгресс*. М., 1982, т. 1, кн. 2, 172–173.
1564. Панде С. П., Анантарамиах С. Н., Анантакришнан Ц. П. *XVIII Межд. конгр. по мол. делу*. М., Пищ. пром., 1972, 73.
1565. Панов В. П., Перфильева Л. Г., Еремина В. И. *Тр. ВНИИМС*, Углич,, 1988, 95–100.
1566. Панов В. П., Уманский М. С., Бузов И. П. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 380–381.
1567. Патент США A23C. *DSA*, 1988, 50(7), 4608.
1568. Персе Л. Е. *XIII Межд. конгр. по молочному делу*. М., Пищевая пром., 1972, 66–67.
1569. Перфильев Г. Д. и др. «*Бактериальные закваски, препараты и концентраты*». Углич, ВНИИМС, 1995, 100 с.
1570. Перфильев Г. Д. и др. «*Производство и применение бактериальных заквасок и препаратов в сыроделии*». М., ЦНИИТЭИмясомолпром, 1985, 36 с.
1571. Перфильев Г. Д. и др. В кн.: «*Вклад науки в развитие маслоделия и сыроделия*». Тез. докл. науч.-техн. конф., Углич, 1994, 202.
1572. Перфильев Г. Д. и др. Там же, 185.
1573. Перфильев Г. Д. и др. *Тез. докл. к науч.-техн. конф.*, Барнаул, 1989, 183–186.
1574. Перфильев Г. Д. и др. *Тр. ВНИИМС*, в. XXX. Ярославль, 1979, 22–25.
1575. Перфильев Г. Д., Гудков А. В. «*Возбудители маслянокислого брожения в сырах и меры борьбы с ними*». М., ЦНИИТЭИ мясомолпром, 1981, 39 с.
1576. Перфильев Г. Д., Гудков А. В. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 258.
1577. Перфильев Г. Д., Гудков А. В. *Мол. пром.*, 1982, №6, 30–31.
1578. Перфильев Г. Д., Гудков А. В. *Тр. ВНИИМС*, в. XXX, Ярославль, 1979, 35–37.
1579. Перфильев Г. Д., Гудков А. В., Григоров Н. И. *Мол. пром.*, 1982, 6, 30–31.
1580. Перфильев Г. Д., Гудков А. В., Матевосян Л. С. *Тр. ВНИИМС*, Углич, 1979, в. XXX, 78–82.
1581. Перфильев Г. Д., Рогов Г. Н. *Матер. Всесоюз. научн.-техн. конф. «Современная технология сыроделия и безотходная переработка молока»*. Ереван, Айастан, 1989, 457–458.

1582. Перфильев Г. Д., Смыков И. Т. *Тез. докл. науч.-техн. конф.* Углич, 1994, 217.
1583. Перфильев Г. Д., Сорокина Н. П., Елисеева Н. Н. *Тр. ВНИИМС* «Технология и техника сыроделия». М., Легкая и пищевая пром., 1982, 65–69.
1584. Петрова Н. *Хранит. пром.*, 1976, 24(1), 14–16.
1585. Петрушина Л. И. *Вопросы питания*, 1977, №3, 75–79.
1586. Пиарс К. Н. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 392.
1587. Пожалостина Л. В. и др. *Мол. пром.*, 1984, №1, 18–21.
1588. Позняк С. Б., Пивоварчук Р. А., Юшкевич С. Б. *Ж. микробиол., эпидемиолог., иммунолог.*, 1986, 103–110.
1589. Покровский В. И. и др. *Большая медиц. энциклопедия*. Изд. 3-е, 1977, т.7, 874–892.
1590. Полянина Н. А., Перфильев Г. Д., Белов А. Н. *Тез. докл. науч.-техн. конф. «Интенсификация производства и повышения качества сыра»*. Барнаул, 1989, 182–183.
1591. Полянина Н. А., Перфильев Г. Д., Медведева З. П. *Тез. докл. науч.-техн. конф. «Вклад науки в развитие маслоделия и сыроделия»*. Углич, 1994, 221–222.
1592. Попков Н. А. В кн.: *«Пути увеличения произ. молока и говядины»*. Горки, Белорусская с.-х. акад., 1987, 104–105.
1593. Производство сыра: технология и качество. Перевод с франц. под ред. Г. Г. Шилера. М., Агропромиздат, 1989, 496.
1594. Протасова И. С. *Канд. дисс.*, Углич - Вологда, 1998, 96.
1595. Прудов А. И., Безенко Т. И. В кн.: *«Актуальные проблемы переработки молока и производства молочных продуктов»*. Вологда, 1989, 35–37.
1596. Пясяцкас Д. Б., Нарвашейне Ю. Т. В кн.: *«Повышение эффективности использования НИОКР на молочных предприятиях в новых условиях хозяйствования»*. Тез. докл. VII научн.-технич. конф. Каунас, 1988, 50–57.
1597. Рамазанов И. У. и др. *Тр. ВНИИМС* «Технология и техника сыроделия», М., 1982, 15–18.
1598. Рамазанов И. У. и др. *Тр. ВНИИМС*, Углич, в. VIII, 1972, 3–36.
1599. Раманаускас Р. В кн.: *«Повышение интенсивности использования НИОКР на мясомолочных предприятиях в новых условиях хозяйствования»*. Каунас, Лит. филиал ВНИИМС, 1988, 85–86.
1600. Раманаускас Р. и др. *Тез. докл. 7-ой науч.-техн. конф.*, Каунас, 1986, ч. 1, 150–151.
1601. Раманаускас Р. и др. *Тр. Лит. филиала ВНИИМС*, т. VIII, 1973, 63–71.
1602. Раманаускас Р. и др. *Тр. Лит. филиала ВНИИМС*, т. XVI, 1982, 98–100.
1603. Раманаускас Р. И. *Тез. докл. научн.-техн. конф.*, Ставрополь, 1986, 35.
1604. Раманаускас Р. И., Межялене А. П. В кн.: *«Современная технология сыроделия и безотходная переработка молока»*. Ереван, Айастан, 1989, 188–189.

1605. Раманаускас Р. И., Шаломскене Й. Й. М., АГРО НИИТЭИ Минмясомолпрома, 1989, 40.
1606. Раманаускас Р. *Изв. выс. учеб. зав. Пищевая технология*, 1970, №3, 67–69.
1607. Раманаускас Р. Там же, 54.
1608. Раманаускас Р. *Тр. Лит. филиала ВНИИМС*, Вильнюс, 1973, т. VIII, 151–154.
1609. Раманаускас Р. *Тр. Лит. филиала ВНИИМС*, Вильнюс, 1979, т. XIII, 91–101.
1610. Раманаускас Р. *Тр. Лит. филиала ВНИИМС*, Вильнюс, 1984, т. XVIII, 83–89.
1611. Раманаускас Р. *Тр. Лит. филиала ВНИИМС*. Вильнюс, 1980, т. XIV, 71–75.
1612. Раманаускас Р. И., Ряукене Д. Я. *Тез. докл. науч.- техн. конф. «Вклад науки в развитие маслоделия и сыроделия»*. Углич, 1994, 37.
1613. Раманаускас Р., Аленчикене Г.А. *Сыроделие*, 1998, №2–3,19–20.
1614. Раманаускас Р., Бендорене Л., Сурвилене Ю. *Тез. докл. VIII науч.-техн. конф.*, Каунас, 1988, 54.
1615. Раманаускас Р., Каспарова Ж. И. Там же, 149.
1616. Раманаускас Р., Межеляне А. *Тр. Литовского филиала ВНИИМС*, 1990, т. 23, 112–114.
1617. Раманаускас Р., Урбене С. *Тр. Лит. филиала ВНИИМС*, 1974, т. IX, 163–171.
1618. Раманаускас Р., Урбене С., Пясяцкас Д. *Тр. Литовского филиала ВНИИМС*, т.VII, 1973, 259–269.
1619. Раманаускас Р., Шаломскене Й. В кн.: «*Повышение эффективности НИОКР на мясомолочных предприятиях в новых условиях хозяйствования*». Каунас, Лит. филиал ВНИИМС, 1988, 65–66.
1620. Раме Ж. и др. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 332–333.
1621. Раме Ж. П., Майда Э., Вебер Ф. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 395.
1622. Ратклиф М. Ф., Брум М. С., Вилтан Н. Дж. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 333.
1623. Репс и др. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 386.
1624. Рестани П. и др. *РЖ Химия*, 1997, №3, 3Р 1190.
1625. Ридала Э. Х. В «*Сб. докл. Всесоюз. конф. по мол. делу, посвященной 100-летию со дня рождения проф. Ав. А. Калантара*». Ереван: 1960, 34–40.
1626. Робертс Г. Р. В кн.: «*Безвредность пищевых продуктов*». М., Агропромиздат, 1986, 6–17.
1627. Рогов Г. Н. и др. *Тр. ВНИИМС*. Углич, 1989, 35–42.
1628. Рогов Г. Н. и др. Там же, 201–203.
1629. Рогов Г. Н. и др. *Тез. докл. науч.-техн. конф. «Вклад науки в развитие маслоделия и сыроделия»*. Углич, 1994, с. 204–205.
1630. Рогов И. А. и др. М., Агро НИИТЭИММП, 1994, 48.

1631. Розанов А. *Мол. пром.*, 1950, №3, 17–21.
1632. Розанов А. *Мол. пром.*, 1958, №6, 16–19.
1633. Розанов А. *Мол. пром.*, 1959, №7, 12–14.
1634. Роздов И. А. и др. В кн.: «*Вклад науки в развитие маслоделия и сыроделия*». Углич, 1994, 74.
1635. Рой Р. Н. *XXI Межд. мол. конгр.* М., 1982, т. 1, кн. 2, 308.
1636. Роуз Э. «*Химическая микробиология*». М., Мир, 1971, 294 с.
1637. Саакян Р. В. *Мол. пром.*, 1982, №3, 27–29.
1638. Савельев А. А. *Тез. докл. Всесоюз. науч.-техн. конф.*, ч. 2. Углич, 1988, 121–122.
1639. Сажинов Ю. Г., Бовыкина В. С. В кн.: «*Современная технология сыроделия и безотходной переработки молока*». Ереван, 1989, 204.
1640. Сатиева Б. Г., Гаврилова Н. Б. Там же, 180–181.
1641. Сафроненко Л. В., Гудко Н. Н., Панкевич Т. Н. *Тез. докл. науч.-техн. конф.* «*Вклад науки в развитие маслоделия и сыроделия*». Углич, 1994, 206.
1642. Сафроненко Л. В., Парнюк Т. А. Там же 215.
1643. Свешникова И. Г., Керониан Е. А., Коротяев А. И. *Гигиена и санитария*, 1978, №4, 30–32.
1644. Свириденко Ю. Я. В кн. «*Науч. основы прогрессивных технологий хранения и переработки с.-х. продукции для создания продуктов питания человека*». Углич, 1995, 324–325.
1645. Свириденко Ю. Я. и др. Там же, 150–151.
1646. Свириденко Ю. Я. и др. *Тез. докл. науч.-теор. конф.* Углич, 1996, 150.
1647. Свириденко Ю. Я. и др. *Тез. докл. науч.-техн. конф.* «*Вклад науки в развитие маслоделия и сыроделия*», Углич, 1994, 38–42.
1648. Свириденко Ю. Я. и др. Там же, 202.
1649. Свириденко Ю. Я. и др. *Тр. ВНИИМС* «Интенсификация производства и повышение качества сыров», 1987, 52–63.
1650. Свириденко Ю. Я., Свириденко Г. М. *Тр. ВНИИМС* «Биологические исследования и совершенствование технологии сыров», 1985, 65–69.
1651. Свириденко Ю. Я., Свириденко Г. М. *Тр. ВНИИМС* «Интенсификация производства сыров и улучшение их качества», 1984, 111–115.
1652. Свириденко Ю. Я. *Мол. пром.*, 1985, 1, 11–13.
1653. Седова Н. Н. *Вопросы питания*, 1970, №3, 82.
1654. Семенихина В. Ф. Научное обоснование биотехнологических процессов производства цельномолочных продуктов с целью повышения качества и надежности. *Дисс. докт. техн. наук.* М., 1990.
1655. Силаева В. М. и др. *Мол. пром.*, 1992, 5, 23–24.
1656. Симова, Емилина и др. *Биотехнол. биотехн.* 1990, 4(3–4), 35–40.
1657. Симонова Е., Груев П. *РЖ Химия*, 1977, №2, Р 283.
1658. Сирлес М. А. и др. *XVIII Межд. конгр. по мол. делу.* М., Пищевая пром., 1972, 68–69.
1659. Система мероприятий по выявлению и устранению основных поро-

ков молока (горький и прогорклый вкус, тягучесть, запах ацетона). Разработана ВНИИВСГЭ. М., 1994, 15.
1660. Скура С. и др. *РЖ Химия*, 1986, 19, ч. 3, 21Р218.
1661. Славчев Г. *Хранительнопром. наука*, 1987, 3(3), 21–25.
1662. Славчев Г. и др. *Хранит. пром.*, 1994, 43, №9–10, 27–29.
1663. Слановеч Т. *XXI Межд. мол. конгр.* М., 1982, т. 1, кн. 1, 341.
1664. Смирнова И. А., Брагинский В. И. *РЖ Химия*, 1996, 3Р1155.
1665. Смирнова Т. К. и др. *Тез. докл. 7-ой науч.-техн. конф.*, ч. 2. Каунас, 1986, 66.
1666. Соколова З. С. *Автореф. канд. дисс.*, М., 1952, 16.
1667. Соловьев Л. И., Скобелев В. И. *Тр. ВНИИМС*, Углич,, 1990, в. 54, 10–13.
1668. Сорокин Ю. Ю. и др. *Матер. Всес. науч.-техн. конф.* Ереван, 1989, 198–199.
1669. Стасайтите Й., Сухоцкене Й., Гудков А. *Тр. Лит. фил. ВНИИМС*, т. XV, Вильнюс, 1981, 97–103.
1670. Степанова Е. А, Отт Е. Ф. *Тр. ВНИИМС* «Технология и техника сычужных и плавленых сыров», 1989, 82–89.
1671. Степанова Е. А. и др. *Тез. докл. всесоюз. науч.-техн. конф. «Пути развития науки и техн. в мясомол. пром.»*, ч. 2. Углич, 1988, 69–70.
1672. Степанова Е. А., Гудков А. В., Остроумов Л. А. *Тез. науч.-практич. конф. к 25-летию Алтайского филиала ВНИИМС*. Барнаул, 1983, 151–154.
1673. Степанова Е. А., Остроумов Л. А. *Тр. ВНИИМС* «Биологические и физико-химические исследования в маслоделии и сыроделии», 1986, 24–29.
1674. Степанова Е. А., Отт Е. Ф. Сб. научн. трудов «*Биотехнология и техника сычужных и плавленых сыров*». Углич, 1989, 82–89.
1675. Степанова Е. А., Отт Е. Ф. *Тр. ВНИИМС*, 1991, в. 56. Углич, 47–51.
1676. Сулзер Дж. *РЖ Химия*, 1992, 12Р1251Д.
1677. Сурков Б. А., Климовский И. И., Краюшкин В. А. *Мол. пром.*, 1982, 6, 25–27.
1678. Суслов Н. В. и др. *Тез. докл. Российской науч.-техн. конф.*, Кемерово, ч. 1, 41.
1679. Сухоцкене Й. Й, Матулите А. А. *Тез. докл. II-ой науч.-техн. конф. «Современные достижения при производстве масла и белковых молочных прод»*. Каунас, Лит. филиал ВНИИМС, 1973, 252.
1680. Сухоцкене Й. Й., Стасайтите Й. Й., Гудков А. В. *Мол. пром.*, 1984, №12, 8–9.
1681. Сухоцкене Й. Й. *Тез. докл. 2-ой науч.-техн. конф.*, Литовский филиал ВНИИМС, Каунас, 1973, 251.
1682. Сухоцкене Й. Й., *Тр. Лит. филиала ВНИИМС*, 1970, в.V, 323–332.
1683. Сухоцкене Й. Й., Стасайтите Й. *Труды Лит. филиала ВНИИМС*, т. XIV, Вильнюс, 1980, 115–121.
1684. Табачников В. П., Тетерева Л. И. *Тез. докл. 2-й науч.-техн. конф. «Современные достижения в техн. производства натуральных сы-*

ров». Барнаул, 1972, 303–306.
1685. Табачников В. П., Дудник П. Н. *Тр. ВНИИМС*, в. XXI, 26–30.
1686. Табачников В. П. и др. *Тр. ВНИИМС*, 1974, в. XVII, 62–68.
1687. Тайфур А., Мильер Ж., Вейе-Понсе Л. *XXI Межд. мол.конгр.* М., 1982, т. 1, кн. 2, 354–355.
1688. Тарадий А. К. *Автореферат канд. дисс.* Киев, 1986, 21.
1689. Телеску К., Волковичи М., Кинтеску Г. *XXI Межд. мол. конгр.* М., 1982, т. 1, кн. 1, 399–400.
1690. Телеску К., Волковичи М., Кинтеску Г. *XXI Межд. молоч. конгр.* Краткие сообщения. М., 1982, т. 1, кн. 1, 399–400.
1691. Тепел А. *«Химия и физика молока»*. М., Пищевая пром., 1979, 623 с.
1692. Тер-Казарьян С. Ш. и др. В кн.: *«Биол. микроорганизмов и их использование в нар. хоз-ве»*. Иркутск, 1980, 38–44.
1693. Тетерева Л. И. и др. В кн.: *«Вклад науки в развитие маслоделия и сыроделия»*. Углич, 1994, 50.
1694. Тетерева Л. И. и др. *Мол. пром.*, 1994, №6, 29–36.
1695. Тетерева Л. И., Головков В. П., Толкачев А. Н. В кн. *«Научные основы прогрессивных технологий хранения и переработки сельхозпродукции для создания продуктов питания человека»*. Углич, 1995, 77.
1696. Титов А. Г. и др. *Тр. ВНИИМС* «Интенсификация производства сыров и улучшение их качества». Углич, 1984, 13–21.
1697. Титов А. Г., Гудкова М. Я. Там же, 21–25.
1698. Тихоненко А. С. и др. А. С. N 761557 A 23 C 9/12, 1980.
1699. Толле А. и др. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 400.
1700. Томас Н., Ранганатан В.К.Н. *XIX Межд. мол. конгр.* М., 1978, 247–248.
1701. Топуридзе А. Д., Горелова Н. Ф., Крашенинин П. Ф. и др. *Тр. ВНИИМС*, М., в. XXIII, 50–56.
1702. Тсуго Т. и др. *XVII Межд. мол. конгр. по молочному делу*. М.: Пищевая пром., 1971, 90.
1703. Тулупов В. П. *Гигиена и санитария*, 1989, №2, 83–89.
1704. Тулупов В. П., Приходько Е. И., Фомиченко Э. И. *Гигиена и санитария*, 1989, 2, 83–89.
1705. Турнер К. *XVIII Межд. конгр. по молочному делу*. М. 1972, 91.
1706. Турнер К. В., Томас Т. Д. *XXI Межд. мол. конгр.* М., 1982, т. 1, кн. 1, 401–402.
1707. Тюрк К. К. *Мол. пром.*, 1967, №12, 27–28.
1708. Уманский М. С. Авт. свид. СССР №938896. Б. И., 1982, 24.
1709. Уманский М. С., Боровкова Ю. А. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 406.
1710. Уманский М. С., Боровкова Ю. А. *Мол. пром.*, 1979, №6, 20–23.
1711. Уманский М. С., Галенко Г. И., Белов А. Н. *Тр. ВНИИМС*, 1986, 36–40.
1712. Уманский М. С., Козлова Г. А., Каменская Г. А. *Мол. пром.*, 1980, №11, 21–25.
1713. Уманский М. С., Морозова О. П. и др. *Авт. свид. СССР* №1 022 353, 1983.

1714. Уманский М. С., Козлова Г. А. и Морозова О. П. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, кн. 2, 406–407.
1715. Унгер А., Бабелла Ж. *XXI Межд. мол. конгр.*, т. 1, кн. 1, 123–124.
1716. Федин Ф., Попова Т. В., Янковский Д. С. В кн.: «*Биол. исслед. и совершенствование техн. сыров*». Сб. научн. трудов. Углич, 1985, 42–45.
1717. Федин Ф. А. Влияние полной посолки в зерне на микробиологические процессы и качество сыра. *Дисс. канд. техн. наук*. Углич, 1973, 143.
1718. Флегонтова Т. А. *Дисс. канд. биол. наук*. Л., НИИ экспер. медиц., 1983, 182.
1719. Фойси Х., Фесслер Е. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 216–217.
1720. Фойси Х., Шрай Ф. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 361–362.
1721. Фошино Р. *РЖ Биология*, 1989, №7, 166.
1722. Фрайер Т. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 262.
1723. Фролов А. Д., Зарницкий А. М., Фельдмен Ю. М. *Ж. микробиол., эпидемиолог., иммунолог*, 186, №9, 93–97.
1724. Хазенсон Л. Б. В кн.: «*Острые кишечные инфекции*». 1980, в. 4, 3–12.
1725. Хазенсон Л. Б. *Ж. микробиол., эпидемиолог., иммунолог.*, 1985, №1, 22–30.
1726. Хандак Р. Н. *Дисс. канд. техн. наук.*, Углич, 1973, 164.
1727. Харда Ж., Рекордон Ж., Вебер Ф. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 310.
1728. Хардинг Ф. *XXI Междунар. молоч. конгр.* М., Агропромиздат, 1985, 243–247.
1729. Хеешен В., Никуис Х., Блютген А. *XXI Междунар. молоч.конгр.* М., 1982, т. 1, кн. 2, 416–417.
1730. Хелминен Дж. *РЖ Корма и кормление с.-х. животных*, 1989, №5, 610.
1731. Химический состав пищевых продуктов. *Справочник*. Под ред. И. М. Скурихина и М. Н. Волгарева, 2-е изд. М., Агропромиздат, 1987, кн. 1, 224.
1732. Химический состав пищевых продуктов. *Справочник*. Под ред. И. М. Скурихина и М. Н. Волгарева. М., Агропромиздат, 1987, кн. 2, 360.
1733. Хофи А., Рифаат И. Д., Салам М. Х. А., Махран Г. А. *XVIII Междунар. конгр. по молочному делу*. М., 1972, 259–260.
1734. Храскова М. «*Сб. тр. научн.-исслед. инст. мол. пром. в г. Жилине за 1979–1980 гг.*», 1982, 78–84.
1735. Цанева К. *Научные труды Высшего института хран. и вкус. пром.* Пловдив, 1974, 21(1), 211–217.
1736. Чеботарев А. И. *«Биохимические основы созревания сыров»*. Вологодское книжное издательство, 1959.
1737. Чеботарев А. И. *Сб. докл. Всесоюз. конф. по мол. делу, посвященной 100-летию со дня рождения проф. Ав. А. Калантара*. Ереван, 1961, 224–232.

1738. Чеботарев Л. Н., Рогова Т. А., Брацило Т. Е. *Мол. пром.*,1975, №12, 13–15.
1739. Челекбаев М. Д., Жанабаев К. К., Новикова А. С. *Тез. докл. к научн.-техн. конф.* Барнаул, 1989, 111.
1740. Черников М. П. и др. *Вопросы питания*, 1980, 5, 45–50.
1741. Черников М. П., Смирнова Л. И. *Вопросы питания*, 1981, 6, 28–31.
1742. Чужова З. П., Шубина Л. Н., Залашко М. В., Макарьина Н. В. *Микробиология*, 1964, в. 3, 522–527.
1743. Чэпмент Х., Мэбит Л., Шарп Е. *XVII Межд. мол. конгр.* М., 1971, 356–359.
1744. Шаломскене Й, Пляпене А. П. *Тезисы межд. науч.-прак. конф. «Энергоресурсосберегающие технологии переработки с.-х. сырья»*, ч. 1. Минск, 1996, 42–43.
1745. Шаломскене Й, Сухоцкене Й. *Тр. Литовского пищевого института*, Вильнюс, 1993, в. 27, 161–167.
1746. Шапошников А. А., Габрук Н. Г. *Мол. пром.*, 1994, 6, 26–28.
1747. Шарп Дж. К. М. *Бюлл. ВОЗ*, 1987, 65(3), 119–129.
1748. Шуази К. и др. В кн.: *«Производство сыра: технология и качество»*. Пер. с фр. под ред. и с предисл. Г. Г. Шилера. М., Агропромиздат, 1989, 62–96.
1749. Шуази К. и др. Там же, 240–270.
1750. Шендеров Б. А. *«Медицинская микробная экология и функциональное питание»*. Том 1: Микрофлора человека и животных и ее функции. М., Изд-во Грантъ, 1998, 288 с.
1751. Шергин Н. А. и др. *Тр. ВНИИМС*, Углич, 1982, в. 38, 82–87.
1752. Шергин Н. А. и др. *Тр. ВНИИМС*, Углич, 1986, 17–24.
1753. Шергин Н. А. Улучшение качества сыров группы голландского путем совершенствования отбора лейконостоков в закваски. *Автореф. дисс.*, Вологда – Молочное, 1985, 15.
1754. Шергин Н. А., Гудков А. В., Перфильев Г. Д. *Мол. пром.*, 1984, 12, 13–15.
1755. Шергин Н. А., Гудков А. В., Гудков С. А. *Тез. докл. науч.-техн. конф.* Углич, ВНИИМС, 1994, 33–35.
1756. Шергин Н. А. и др. Там же, 176.
1757. Шергин Н. А. и др. В кн.: «*Современная технология сыроделия и безотходная переработка молока*». Матер. Всес. научн.-техн. конф. Ереван, 1989, 454–455.
1758. Шергина И. А. и др. *Тр. ВНИИМС* «Достижения науки и практики сыроделия». Углич, 1988, 9–18.
1759. Шидловская В. П., Князева Е. В. *Мол. пром.*, 1995, 13–15.
1760. Шингарева Т. И. *Изв. вузов. Пищ. технол.*, 1997, №1, 25–27.
1761. Шингарева Т. И. *Тез. докл. 8-й науч.-техн. конф.* Каунас, 1988, 76.
1762. Шлегель Г. «*Общая микробиология*». М., Мир, 1987, 567 с.
1763. Шмидт Ж. Л. *XXI Межд. мол. конгр.* М., 1982, т. 1, кн. 2, 276.
1764. Шуляк Т. Л., Новикова В. П. *Межд. науч.-практ. конф. «Энергоре-*

сурсосберегающие технологии переработки с.-х. сырья». Тез. докл. ч. 1, Минск, 1996, 85–86.

1765. Щедушнов Е. В., Дьяченко П. Ф. *Мол. пром.*, 1972, №9, 13–17.
1766. Щербакова Г. В. В кн.: «*Актуальные проблемы зоотехнической науки и практики*». Тез. докл. и науч. сообщений Областной науч.-практ. конф. Харьков, Харьковский зооветеринарный инст., 1990, 61.
1767. Щербакова Г. В., Кривенцов Ю. М., Котова О. Г. В кн.: «*Интенсификация производства продуктов животноводства*». Материалы науч.-произв. конф. Вологда, 1990, 58–59.
1768. Эган Дж., О'Коннор Ф., *XXI Межд. мол. конгр.* М., 1982, т. 1, кн. 1, 102.
1769. ЭИ «*Мол. пром. за рубежом*», 1987, в. 11, 148.
1770. ЭИ «*Мол. пром., зарубежный опыт*», 1989, в. 2, 21.
1771. ЭИ ЦНИИТЭИ мясомолпром СССР, 1982, 50, №594, 31.
1772. Эльканов Х. А , Карамышева С. Ф., Умрыхина Н. М., Слоневская Л. Н. В кн.: «*Биологические и физико-химические исследования в маслоделии и сыроделии*». *Тр. ВНИИМС*, Углич, 1986, 41–47.
1773. Эммонс Д. В., Беккетт Д. С. Модле. *XXI Межд. мол. конгр.* М., 1982, т. 1, кн. 1, 305.
1774. Якубчак О. Н. *Мол. пром.*, 1995, №7, 13–14.
1775. Ямаучи К., Игоши К., Камикогава С. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 1, 403.
1776. Ярвис А. В. *XXI Межд. мол. конгр.*, М., 1982, т. 1, кн. 2, 227–228.
1777. Ярвис А. В., Ярвис Б. Д. В. Там же, 226.
1778. Ярошкевич А. П. Там же, 143.

Редакция издательства «ДеЛи принт» просит присылать Ваши отзывы и замечания по адресу: 123181, Москва, а/я 42.

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие **3**

Глава 1. Общая характеристика, история сыроделия **5**

1.1. Определение сыра. Основные элементы производства 5

1.2. Возникновение и развитие сыроделия 9

1.3. Развитие сыроделия в России 15

1.4. Классификация сыров 25

Глава 2. Коагуляция молока. Синерезис сгустка **38**

2.1. Общие понятия 38

2.2. Белки молока: состав, номенклатура, основные свойства 40

2.3. Мицеллы казеина: состав, строение, свойства 43

2.4. Молокосвертывающие энзимы 51

2.4.1. Основные понятия, номенклатура 51

2.4.2. Свойства молокосвертывающих энзимов 54

2.4.3. Определение молокосвертывающей активности 62

2.4.4. Приготовление рабочих растворов 63

2.4.5. Иммобилизованные энзимы 64

2.5. Сычужное (энзиматическое) свертывание молока 65

2.5.1. Общие понятия 65

2.5.2. Первичная (энзиматическая) фаза 67

2.5.3. Вторичная (неэнзиматическая) фаза сычужного свертывания. Образование и строение сычужного сгустка 69

2.5.4. Свойства сычужного сгустка и факторы, влияющие на его формирование 72

2.6. Обработка сгустка 94

2.6.1. Кинетика синерезиса 94

2.6.2. Определение величины синерезиса 98

2.6.3. Факторы, влияющие на синерезис 99

2.6.4. Синерезис и содержание влаги в сгустке в конце обработки и в сыре 111

2.7. Кислотное и кислотно-сычужное свертывание 118

2.7.1. Образование кислотного сгустка 118

2.7.2. Факторы, влияющие на свойства кислотного и кислотно-сычужного сгустка 120

2.7.3. Реологические характеристики кислотного сгустка 123

2.7.4. Синерезис кислотного сгустка 125

2.8. Производство сыров с термокислотным осаждением белков 128

2.9. Заключение 130

Глава 3. Микрофлора, применяемая в производстве сыров, созревающих в анаэробных условиях **131**

3.1. Общая характеристика 131

3.2. Молочнокислые бактерии ... 132
3.2.1. Общие свойства ... 132
3.2.2. Классификация ... 134
3.2.3. Функции молочнокислых бактерий в сыроделии ... 134
3.2.4. Лактококки ... 148
3.2.5. Лейконостоки ... 166
3.2.6. Термофильный стрептококк ... 177
3.2.7. Педиококки ... 181
3.2.8. Энтерококки и стрептококки серологической группы D ... 183
3.2.9. Лактобациллы ... 190
3.3. Пропионовокислые бактерии ... 213
3.3.1. Общие свойства ... 213
3.3.2. Классификация, среда обитания ... 214
3.3.3. Устойчивость к внешним воздействиям, рост в молоке и сыре ... 216
3.4. Заключение ... 225
Глава 4. Бактериофаги в сыроделии ... 227
4.1. Определение, строение, репродукция ... 227
4.2. Основные свойства бактериофагов лактококков ... 231
4.3. Источники бактериофагов ... 238
4.4. Особенности действия бактериофагов в сыроделии ... 240
4.5. Защита заквасок от бактериофага, фаговый мониторинг ... 243
4.6. Бактериофаги термофильных лактобактерий и мезофильных лактобацилл ... 259
4.6.1. Фаги термофильного стрептококка ... 259
4.6.2. Фаги лактобацилл ... 260
4.7. Заключение ... 262
Глава 5. Бактериальные закваски: состав, применение ... 263
5.1. Общие понятия ... 263
5.2. Функции бактериальных заквасок ... 264
5.3. Типы заквасок ... 267
5.4. Приготовление и применение ... 271
5.5. Заключение ... 279
Глава 6. Посторонняя микрофлора и предотвращение ее развития в твердых сырах ... 280
6.1. Общие закономерности ... 280
6.2. Энтеробактерии ... 284
6.2.1. Общие свойства ... 284
6.2.2. Кишечная палочка и бактерии группы кишечных палочек ... 286
6.2.3. Шигеллы ... 300
6.2.4. Сальмонеллы ... 304

6.2.5. *Yersinia enterocolitica* 309
6.2.6. Протей 311
6.3. Стафилококки 312
6.3.1. Общая характеристика 312
6.3.2. Стафилококковые энтеротоксины 315
6.3.3. Влияние физико-химических факторов на рост и токсинообразование *S. aureus* 316
6.3.4. Источники обсеменения сыров стафилококками 321
6.3.5. Рост и токсинообразование стафилококков в сырах 322
6.4. *Listeria monocytogenes* 328
6.4.1. Общие свойства, патогенность 328
6.4.2. Распространение в природе и молочных продуктах 329
6.4.3. Термоустойчивость 331
6.4.4. Отношение к другим внешним факторам 332
6.4.5. Развитие *List. monocytogenes* в молоке и сыре 335
6.5. Маслянокислые бактерии и маслянокислое брожение 339
6.5.1. Общие свойства 339
6.5.2. Влияние внешних факторов на маслянокислые бактерии 342
6.5.3. Методы количественного учета 349
6.5.4. Источники заражения сыров 351
6.5.5. Рост и роль в сырах 357
6.5.6. Методы предотвращения маслянокислого брожения в сырах 361
6.6. Протеолитические виды споровых анаэробов 376
6.7. Психротрофные микроорганизмы 377
6.8. Заключение 387
Глава 7. Молоко как сырье для выработки сыра 388
7.1. Основные понятия 388
7.2. Химический состав и основные свойства 390
7.2.1. Белки 391
7.2.2. Небелковые азотистые соединения 394
7.2.3. Молочный жир и свободные жирные кислоты 395
7.2.4. Лактоза 397
7.2.5. Цитраты 397
7.2.6. Минеральные компоненты 397
7.2.7. Микотоксины 402
7.2.8. Пестициды 402
7.2.9. Нитраты 405
7.2.10. Ингибиторы роста микроорганизмов 405
7.2.11. Энзимы молока 411
7.2.12. Соматические клетки 414

7.2.13. Прочие соединения 417
7.2.14. Кислотность 417
7.2.15. Окислительно-восстановительный потенциал (Eh) 419
7.3. Микрофлора сырого молока 420
7.3.1. Пути влияния микрофлоры на производство и качество сыров 420
7.3.2. Источники загрязнения молока микроорганизмами 423
7.3.3. Размножение бактерий в сыром молоке 430
7.3.4. Изменение микрофлоры молока во время транспортировки 436
7.3.5. Состав основной микрофлоры сырого молока 438
7.4. Факторы, влияющие на сыропригодность молока 440
7.4.1. Порода скота 440
7.4.2. Стадия лактации и сезон 445
7.4.3. Кормление 449
7.4.4. Здоровье животных 457
7.5. Пороки молока 461
7.6. Контроль качества молока при закупке 463
7.7. Заключение 467
Глава 8. Технология, микрофлора и биохимия сыров, созревающих в аэробных условиях 469
8.1. Особенности технологии 469
8.2. Слизневые сыры 476
8.2.1. Микрофлора слизневых сыров 476
8.2.2. Формирование органолептических показателей 480
8.3. Грибные (плесневые) сыры 483
8.3.1. Микрофлора плесневых сыров 483
8.3.2. Изменение микрофлоры сыров во время созревания 487
8.3.3. Созревание грибных сыров 490
8.4. Заключение 498
Глава 9. Подготовка молока 500
9.1. Удаление механических загрязнений из молока 500
9.2. Хранение, резервирование 501
9.3. Созревание молока 503
9.4. Обработка молока CO_2 и азотом 510
9.5. Тепловая обработка молока 511
9.5.1. Пастеризация молока 511
9.5.2. Термизация молока 518
9.6. Гомогенизация молока 519
9.7. Вакуумирование, дезодорация молока 521
9.8. Нормализация молока 521
9.9. Заключение 522

Глава 10. Соль в сыре: физические, химические и микробиологические аспекты 523
10.1. Общие положения 523
10.2. Активность воды (A_w) 523
10.3. Способы посолки сыров. Влияние соли на микрофлору 526
10.3.1. Посолка молока 527
10.3.2. Полная посолка в зерне 528
10.3.3. Посолка сыра Чеддер 531
10.3.4. Посолка в рассоле 532
10.3.5. Частичная посолка в зерне 534
10.3.6. Посолка сухой солью и инъекционными способами 535
10.4. Абсорбция соли сыром и ее диффузия в сырной массе 536
10.5. Рассол для посолки сыров 539
10.6. Влияние соли на химические и органолептические показатели 541
10.7. Заключение 543
Глава 11. Формирование органолептических показателей твердых сыров 544
11.1. Общие положения 544
11.2. Факторы созревания твердых сыров 550
11.2.1. Природные энзимы молока 550
11.2.2. Энзимы микрофлоры сырого молока 552
11.2.3. Молокосвертывающие энзимы 554
11.2.4. Энзимы микрофлоры заквасок 558
11.2.5. Роль вторичной микрофлоры сыра 571
11.3. Формирование органолептических показателей твердых сыров 575
11.3.1. Влияние химического состава 575
11.3.2. Протеолиз и формирование органолептических показателей 580
11.3.3. Липолиз, летучие жирные кислоты, карбонильные и другие соединения в формировании вкуса и аромата сыров 611
11.3.4. Образование рисунка 619
11.3.5. Влияние редокс-потенциала и температуры созревания на органолептические показатели сыров 620
11.3.6. Ускорение созревания сыров 623
11.4. Заключение 630
Глава 12. Пороки сыра 631
12.1. Пороки вкуса и запаха 631
12.1.1. Горький вкус 631
12.1.2. Кислый вкус 637
12.1.3. Слабовыраженные и нетипичные вкус и аромат 640
12.1.4. Нечистый вкус 644
12.1.5. Прогорклый вкус и запах 649

12.1.6. Затхлый вкус и запах 650
12.1.7. Салистый вкус 651
12.2. Пороки консистенции 651
12.2.1. Твердая, грубая консистенция 651
12.2.2. Резинистая консистенция 654
12.2.3. Мажущаяся консистенция 655
12.2.4. Крошливая, ломкая консистенция 656
12.2.5. Колющаяся консистенция (самокол) 657
12.2.6. Мучнистая консистенция 661
12.2.7. Свищи 662
12.3. Пороки рисунка сыра 662
12.3.1. Раннее вспучивание сыров 662
12.3.2. Позднее вспучивание сыров 665
12.3.3. Отсутствие рисунка («слепой» сыр) 668
12.3.4. Редкий и мелкий рисунок 669
12.3.5. Сетчатый рисунок 670
12.3.6. Неравномерный рисунок 671
12.3.7. Губчатый рисунок 671
12.4. Пороки внешнего вида 671
12.4.1. Деформация головок 671
12.4.2. Повреждения корки 672
12.4.3. Подопревшая корка 673
12.4.4. Поврежденное парафиновое или комбинированное покрытие 674
12.4.5. Подкорковая плесень 676
12.4.6. Осповидная плесень 678
12.4.7. Цветные пятна на поверхности сыра 679
12.4.8. Выделение жира в крупных сырах 680
12.4.9. Гнилостные колодцы 680
12.4.10. Предотвращение пороков, вызываемых поверхностной микрофлорой 680
12.5. Пороки цвета теста 683
12.6. Пороки, вызываемые насекомыми 684
12.7. Пороки рассольных и мягких сыров 685
Глава 13. Сыр в питании человека 686
13.1. Общие понятия 686
13.2. Состав сыров 688
13.3. Белки 688
13.4. Липиды 691
13.5. Лактоза и органические кислоты 695
13.6. Минеральные вещества 696

13.7. Витамины 697
13.8. Диетические (функциональные) сыры 699
13.9. Нитраты, нитриты и нитрозоамины 700
13.9.1. Нитраты и нитриты 700
13.9.2. Нитрозоамины 702
13.10. Амины 703
13.11. Микробиальные токсины 705
13.11.1. Микотоксины 705
13.11.2. Бактериальные токсины 706
13.11.3. Прочие токсичные соединения в сырах 707
13.12. Заключение 707
Глава 14. Гигиена производства 708
14.1. Общие понятия 708
14.2. Управление выработкой и созреванием твердых сыров 713
14.3. Гигиенические требования к составным элементам производства сыра 714
14.3.1. Расположение сыродельных предприятий и территория 714
14.3.2. Здания и сооружения 724
14.3.3. Вода 725
14.3.4. Рассол 727
14.3.5. Пар 727
14.3.6. Холод 727
14.3.7. Удаление сточных вод, отходов производства, канализация 727
14.3.8. Вентиляция, кондиционирование воздуха 728
14.3.9. Санитарные устройства 729
14.3.10. Оборудование и инвентарь 730
14.3.11. Мойка и дезинфекция 731
14.3.12. Сырье 734
14.3.13. Хранение готового продукта, сырья, материалов 737
14.3.14. Борьба с вредителями 738
14.3.15. Персонал 738
14.3.16. Лаборатории 740
14.4. Заключение 741
Литература 742

Научное издание

Гудков Анатолий Васильевич

Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты

(Под редакцией С. А. Гудкова)

Главный редактор *О. В. Саламаха*
Художественный редактор *В. Н. Смирнов*
Редактор *Г. И. Елагин*
Художник *Л. Б. Саламаха*
Компьютерная верстка *Н. И. Смирнова*
Фотограф *М. А. Ващук*

Изд. лиц. ИД № 02500 от 31.07.00. Подписано в печать 08.06.04. Формат 60×88 1/16.
Бумага офсет № 1. Гарнитура «Таймс». Усл. печ. л. 50. Уч.-изд. л. 49,2.
Тираж 1000 экз. Заказ № 8235.
Издательство «ДеЛи принт». 123181, г. Москва, а/я 42, тел. (095) 265-7145

Отпечатано в ФГУП «Производственно-издательский комбинат ВИНИТИ»

140010, г. Люберцы, Московской обл., Октябрьский пр-т, 403.



Гудков Анатолий Васильевич
1930–1999
доктор технических наук, профессор,
главный научный сотрудник
ВНИИ маслоделия и сыроделия

А. В. Гудков – крупный российский ученый, научная деятельность которого получила широкое признание как в нашей стране, так и за рубежом. Он является основоположником ряда научных направлений в области технологии и микробиологии сыроделия. А. В. Гудков заложил основы теории и практики управления качеством сыров с использованием технологических и биологических методов. Результаты его фундаментальных исследований способствовали формированию современных научных представлений о биотехнологии сыров и подходов к оптимизации их производства. Выполненные им работы составляют основу современной системы микробиологического и санитарно-гигиенического контроля сыродельного и маслодельного производства. А. В. Гудковым опубликовано в отечественной и зарубежной литературе более 400 научных работ, получено 55 авторских свидетельств и патентов на изобретения. Под его руководством создана научная школа микробиологов сыроделия и маслоделия, подготовлено более 30 кандидатов наук. Трудовая и научная деятельность А. В. Гудкова отмечена орденом "Трудового Красного Знамени", медалями "За доблестный труд" и "Ветеран труда", золотыми, серебряными и бронзовыми медалями ВДНХ СССР.

ISBN 5-94343-071-7

