

637.1

Р 98

КАЛАВРИАТ И МАГИСТРАТУРА

# МИКРОБИОЛОГИЯ МОЛОКА И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

С. А. Рябцева, В. И. Ганина, Н. М. Панова



[www.e.lanbook.com](http://www.e.lanbook.com)



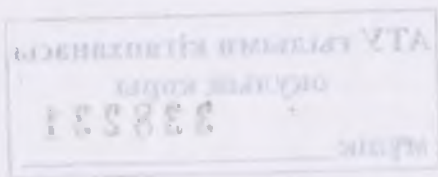
**ЭБС  
ЛАНЬ**



С. А. РЯБЦЕВА, В. И. ГАНИНА, Н. М. ПАНОВА

# МИКРОБИОЛОГИЯ МОЛОКА И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

*Учебное пособие*



ЛАНЬ®  
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ  
МОСКВА  
КРАСНОДАР  
2018

ББК 36-1я73

Р 98

Рябцева С. А., Ганина В. И., Панова Н. М.

**Р 98** Микробиология молока и молочных продуктов: Учебное пособие. — СПб. : Издательство «Лань», 2018. — 192 с.: ил. — (Учебники для вузов. Специальная литература).

ISBN 978-5-8114-2752-9

В учебном пособии рассмотрены вопросы развития микробиологии молока и молочных продуктов, современные представления о классификации и свойствах микроорганизмов, применяемых в производстве молочных продуктов, а также вызывающих их порчу и алиментарные заболевания. Дана характеристика индикаторных групп микроорганизмов, позволяющих контролировать качество и безопасность молочных продуктов. Описаны особенности микробиологических процессов и контроля производства сырого и питьевого молока, кисломолочных продуктов, сыра, масла, вторичного молочного сырья, молочных консервов и мороженого в соответствии с действующими нормативными документами.

Учебное пособие предназначено для студентов вузов, обучающихся по направлениям подготовки «Продукты питания животного происхождения», «Биотехнология», «Технология продукции и организация общественного питания». Книга также будет полезна для аспирантов и практикующих специалистов.

ББК 36-1я73

#### Рецензенты:

**С. А. ЕМЕЛЬЯНОВ** — доктор технических наук, профессор кафедры прикладной биотехнологии Северо-Кавказского федерального университета;

**В. Ф. СЕМЕНИХИНА** — доктор технических наук, профессор, главный научный сотрудник Центральной лаборатории микробиологии Всероссийского научно-исследовательского института молочной промышленности.

Обложка

**Е. А. ВЛАСОВА**

© Издательство «Лань», 2018

© Коллектив авторов, 2018

© Издательство «Лань»,

художественное оформление, 2018

## ВВЕДЕНИЕ

Микробиология молока и молочных продуктов — раздел технической микробиологии, которая изучает невидимые невооруженным глазом живые существа, оказывающие влияние на производство необходимых человеку продуктов. Объектами микробиологии молочного дела являются не только полезные, используемые в производстве бактерии и грибы, но и микробы, способные вызвать порчу молочных продуктов и заболевания человека, связанные с употреблением пищи, а также индикаторные микроорганизмы. Важными темами являются особенности микробиологических процессов и контроля производства разных групп молочных продуктов, включая питьевое молоко, кисломолочные продукты, сыр, масло, молочные консервы.

Цель освоения «Микробиологии молока и молочных продуктов» как дисциплины — формирование профессиональных компетенций будущего бакалавра по направлению подготовки 19.03.03 «Продукты питания животного происхождения», профилю «Технология молока и молочных продуктов».

В данном учебном пособии на современном уровне рассмотрены история развития и современное состояние микробиологии молочного дела; систематика, морфологические и биохимические свойства заквасочной микрофлоры, микроорганизмов, вызывающих пороки молочных продуктов, а также санитарно-показательных и патогенных микроорганизмов, способных развиваться в молоке; микробиологические аспекты получения отдельных видов молочных продуктов. Представлены требования к микробиологическим показателям сырья, полуфабрикатов и готовых молочных продуктов в соответствии с действующими нормативными документами.

По каждой теме даны выводы, вопросы и задания для самоконтроля для базового и повышенного уровня, приведен список рекомендуемых литературных и интернет-источников.

# 1. ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ И СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ МИКРОБИОЛОГИИ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

## 1.1. ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ ТЕХНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ МОЛОЧНОГО ДЕЛА

Пищевая микробиология как практически ориентированная область знаний о живом микромире начала формироваться только в середине XIX в. До этого шло накопление опыта получения вкусной и безопасной пищи, которую можно было бы длительно хранить.

Человек использовал молочнокислое брожение с древности (в соответствии с археологическими находками — уже 8–10 тыс. лет до нашей эры), с тех пор как научился получать молоко от животных и выпил первый глоток простокваши. Люди заметили, что кисломолочные напитки и сыр легче сохранить, чем просто молоко. Из поколения в поколение передавались секреты приготовления простокваши, сметаны, кефира, творога, разнообразных сыров. Кефир и кумыс издавна использовались в народной медицине. Однако продукты часто портились, получались не всегда одинаково вкусными, иногда вызывали болезни, и причина этого была людям непонятна.

В 1857 г. Луи Пастер установил, что спиртовое брожение вызывается дрожжами, а молочнокислое — бактериями, и разработал метод щадящей тепловой обработки пищевых продуктов — пастеризацию.

В 1878 г. Джозеф Листер выделил чистую культуру молочнокислых кокков, применив метод предельных разведений.

В начале XX в. Илья Ильич Мечников открыл явление антагонизма между молочнокислыми и гнилостными бактериями, рекомендовал пить каждый день кисломолочные напитки, причем основным средством для предупреждения старения и самоотравления считал болгарскую палочку. В это же время (1909–1919) Сигурд Орла-Йенсен описал большое количество молочнокислых бактерий.

В 1900 г. Сергей Александрович Северин организовал выпуск чистых культур молочнокислых бактерий для маслоделия на Московской бактериолого-агрономической станции. Крупное производство сухих заквасок чистых культур было организовано на бактериологической станции Вологодского молочнохозяйственного института, который стал центром научных исследований по молочному делу с 1914 г.

Основоположником отечественной микробиологии молока и молочных продуктов по праву считается Сергей Александрович Королев (1874–1932). Он создал первую школу микробиологов молочной промышленности, провел комплекс исследований микробиологических процессов, выявил закономерности молочнокислого процесса и причины возникновения пороков при производстве

молочных продуктов; впервые в России применил чистые культуры молочнокислых бактерий в производстве. В 1932 г. им был издан фундаментальный труд «Основы технической микробиологии молочного дела», который имеет большое значение и в настоящее время. Из школы, созданной С. А. Королевым, вышли такие известные микробиологи, как В. М. Богданов, А. М. Скородумова, В. И. Верещагина, Н. Н. Зайковская, Н. С. Королева и др.

Большой вклад в развитие микробиологии молочного дела внесла Наталия Сергеевна Королева, особенно глубоко она занималась микробиологией цельномолочных продуктов. Под руководством Н. С. Королевой были проведены комплексные работы по изучению микробиологических процессов, происходящих при производстве кефирной закваски и кефира, создан лечебный препарат «Аципол» на основе ацидофильных бактерий и полисахаридов кефирных грибков. Н. С. Королева подготовила блестящих учеников, в том числе Л. А. Банникову, В. Ф. Семенихину, И. В. Рожкову и др.

В 1936 г. в г. Угличе была создана научно-исследовательская лаборатория, преобразованная позже в НИИ маслодельной и сыродельной промышленности (ВНИИМС). Здесь получили развитие дальнейшие исследования микроорганизмов в сыроделии, в том числе были созданы и внедрены первые бактериальные концентраты для сыров с низкой температурой второго нагревания (работы М. Р. Гибшман, И. И. Климовского, А. В. Гудкова, А. И. Маненковой, Г. А. Беловой, П. Ф. Крашенинина, Г. Д. Перфильева и др.). На биофабрике ВНИИМС впервые в мире в конце 1960-х гг. было начато серийное производство сухих бактериальных концентратов для приготовления производственной закваски беспересадочным способом и непосредственного внесения в нормализованную смесь.

Анатолий Васильевич Гудков внес большой вклад в разработку биологических способов борьбы с вредной микрофлорой в сыроделии, создание теории и разработку методов управления качеством сыра, научное обоснование технологии бифидосодержащих кисломолочных продуктов и кормовых средств.

Работы Геннадия Дмитриевича Перфильева связаны с созданием биотехнологии производства и применения бактериальных препаратов для сыроделия, разработкой средств и методов управления микробиологическими процессами при производстве ферментированных молочных продуктов и кормовых средств, разработкой системы интегрального микробиологического контроля молока, натуральных и плавленых сыров.

Исследованиями процессов микробного синтеза на молочной сыворотке в 70–80-е гг. прошлого века занимался Михаил Валентинович Залашко (Белорусский филиал ВНИМИ, Институт микробиологии НАН Белоруссии). В результате были разработаны способы получения микробной биомассы, витаминов, ферментов, кислот, спирта и других биокомпонентов из сыворотки, созданы биозаменители цельного молока, кормовые белково-витаминные препараты, лечебно-профилактические закваски. Особое внимание было уделено выращиванию на сыворотке кормовых и пищевых дрожжей, факторам, влияющим на рост и продуктивность культур.

## 1.2. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ТЕХНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ МОЛОЧНОГО ДЕЛА

Развитие микробиологии молока и молочных продуктов в мире в настоящее время определяется двумя тенденциями:

- изменениями, происходящими в общей микробиологии, прежде всего в методах исследований, генетике и систематике микроорганизмов;
- процессами, происходящими в молочной промышленности, ее проблемами и потребностями, следовательно, готовностью финансировать исследования в этой области.

К актуальным направлениям современных исследований можно отнести следующие:

- обеспечение **безопасности** молочных продуктов;
- разработку **новых видов и штаммов заквасочной микрофлоры** с производственно-ценными и функциональными свойствами, прежде всего **пробиотиков и синбиотиков**;
- развитие биотехнологии заквасок прямого внесения;
- совершенствование методов борьбы с **бактериофагией**, особенно в связи с распространением полифагии;
- совершенствование **методов и средств микробиологического контроля**, необходимость которых обусловлена внедрением международных систем обеспечения качества пищевых продуктов и вступлением России во Всемирную Торговую Организацию.

Острота проблемы безопасности молочных продуктов обусловлена следующими основными факторами:

- **микробиологическими** (появление устойчивых к температуре, антибиотикам, дезинфицирующим средствам и более агрессивных штаммов);
- **промышленными** (концентрация производства, создание новых технологий с использованием новых видов сырья, увеличение сроков хранения продуктов, глобализация торговли);
- **человеческим** (увеличение восприимчивости людей к возбудителям из-за старения, экологии, иммунодефицитов, неправильного питания).

Большой вклад в решение проблемы микробиологической безопасности и качества молочной продукции, а также получения пробиотиков для функционального питания в последние десятилетия внесли отечественные ученые С. И. Артюхова, В. И. Ганина, Н. Б. Гаврилова, Л. В. Голубева, Л. А. Забодалова, З. С. Зобкова, Г. Д. Перфильев, И. В. Рожкова, Г. М. Свириденко, В. Ф. Семенихина, П. П. Степаненко, Н. А. Тихомирова, И. С. Хамагаева и др.

К актуальным исследованиям в области специальной микробиологии, выполненным в последние годы в нашей стране, можно отнести следующие:

— теоретическое обоснование и практическая реализация системы мониторинга микробиологических рисков в сыроделии (докторская диссертация Г. М. Свириденко);

— разработка метода индикации бактериофагов, лизирующих молочнокислые бактерии (кандидатская диссертация И. Р. Волковой);

— разработка биокомпозиции на основе изучения консервирующего эффекта пробиотических бактерий и продуктов их метаболизма в сочетании с природными полимерными материалами для защиты молочных продуктов от размножения в них возбудителей порчи и кишечных инфекций (кандидатская диссертация А. В. Молдавановой);

— разработка закваски для йогурта, обладающей низкой постокислительной активностью и продуцирующей экзополисахарида (кандидатская диссертация А. А. Абрамовой);

— разработка пробиотической композиции с высокой способностью к редукции холестерина (кандидатская диссертация М. А. Головина);

— исследование свойств покоящихся форм микроорганизмов и разработка методики их определения в молочной продукции с длительными сроками годности (кандидатская диссертация А. И. Гриневич);

— исследование генетической стабильности молочнокислых микроорганизмов при замораживании и низкотемпературном хранении (кандидатская диссертация Е. В. Короткой);

— разработка консорциумов пробиотических культур, обладающих повышенной антимикробной активностью и устойчивостью, а также технологии функциональных биопродуктов на их основе, в том числе для людей, работающих в особых, экстремальных условиях (кандидатская диссертация Т. Т. Толстогузовой);

— исследование микробиологических аспектов получения и переработки вторичного молочного сырья, включая производство лактулозы и бифидогенных добавок (кандидатские диссертации О. В. Кузнецовой и Ю. Г. Гетман).

В настоящее время промышленное производство заквасок для отечественной промышленности осуществляется в основном ГУП «Угличская экспериментальная биофабрика», ООО «Барнаульская биофабрика» и ГНУ ВНИМИ (Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности). Постепенно расширяется ассортимент и объемы производства заквасок в ООО «Зеленые линии» (ГК «СоюзСнаб»), НПО «Бифилайф», «Вектор БиАльгам», «Био Веста», ООО «Пропионикс» (Улан-Удэ) и др. В то же время на российском рынке заквасок пока доминируют зарубежные фирмы, предлагающие широкий ассортимент концентрированных заквасок (прямого внесения). Следует отметить, что импортные культуры не всегда подходят для выпуска продукции из отечественного молока. Кроме того, стоимость российских заквасок в среднем на 30–40% ниже, чем импортных.

### 1.3. КЛАССИФИКАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИХ РОЛИ В ФОРМИРОВАНИИ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКЦИИ

Специальная (техническая) микробиология молочной отрасли является научной основой производства качественных и безопасных молочных продуктов, в том числе кисломолочных напитков, сметаны, творога и творожных изделий, всех групп сыров, некоторых видов масла. Важно отметить, что технолог должен знать свойства не только полезной (заквасочной микрофлоры), но и вредных микроорганизмов, которые вызывают порчу продукции и даже заболевания человека, уметь предупреждать их развитие и проводить микробиологические исследования молочной продукции.

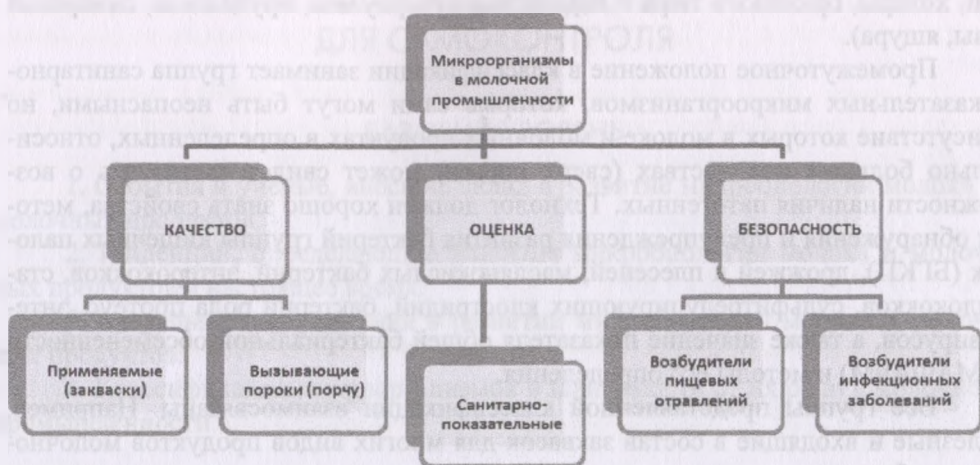
Молоко представляет собой благоприятную среду для развития многих видов микроорганизмов, так как содержит много воды, доступный источник углерода и энергии (лактозу, белки, небелковые азотистые вещества, жир, минеральные соли). Поэтому в молоке может интенсивно развиваться как полезная микрофлора, прежде всего молочнокислые микроорганизмы, так и вредная, вызывающая пороки, а иногда просто опасная. Можно также условно разделить всю микрофлору на необходимую для производства и постороннюю, однако такая классификация является упрощенной.

Все микроорганизмы, встречающиеся в молоке и молочных продуктах, в соответствии с классификацией, предложенной Л. А. Банниковой, Н. С. Королевой и В. Ф. Семенихиной, делятся на 3 основные группы: технически важная микрофлора, патогенные и санитарно-показательные микроорганизмы. Можно сказать, что эти группы определяют три важнейших аспекта производства молочных продуктов: качество, безопасность и их оценку (рис. 1.1).

К первой группе относятся микроорганизмы, непосредственно участвующие в формировании состава и свойств (качества) молочной продукции. В ней выделяют две подгруппы: микроорганизмы заквасок (используемые в производстве) и микроорганизмы, вызывающие пороки молока и молочных продуктов.

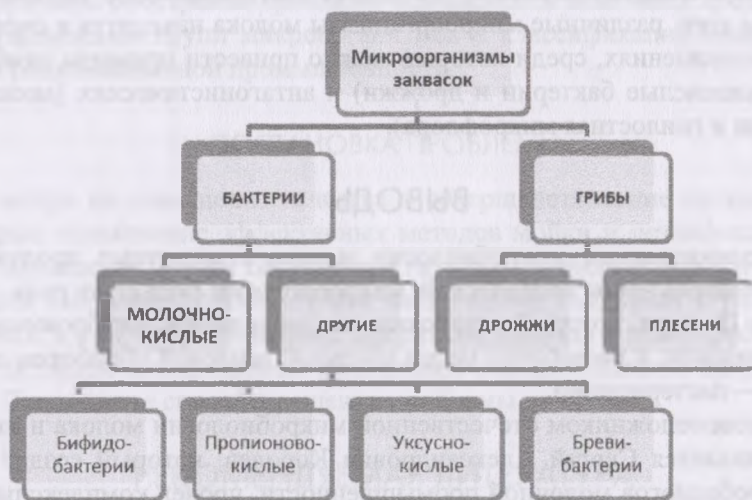
Молочнокислые бактерии (кокки и палочки) являются основной заквасочной микрофлорой. В производстве отдельных видов молочных продуктов применяются другие группы бактерий, а также различные дрожжи и плесени (рис. 1.2).

Среди разнообразных микроорганизмов, вызывающих пороки, выделяют несколько основных групп: неспорообразующих палочек (флюоресцирующая, термоустойчивая, чудесная, кишечная), спорообразующих палочек (бациллы и клостридии); дрожжей и плесеней; бактериофагов. Чтобы получить продукцию высокого качества, необходимо предупреждать их развитие.



**Рис. 1.1**

Классификация микроорганизмов по их роли в молочной промышленности



**Рис. 1.2**

Классификация микроорганизмов заквасок

Особая группа — группа патогенных микроорганизмов, встречающихся в молоке и способных вызвать алиментарные заболевания. Задача технолога — знать их свойства и обеспечить условия, при которых эти микроорганизмы не смогут попасть в молоко и молочные продукты и развиваться там, и таким образом гарантировать безопасность продуктов. Эта группа делится на две подгруппы: возбудителей пищевых отравлений (патогенные стафилококки, стрептококки, возбудители ботулизма и микотоксикозов, сальмонеллез) и возбудителей инфекционных болезней человека (возбудитель бактериальной дизенте-

рии, холеры, брюшного тифа и паратифов, туберкулеза, бруцеллеза, сибирской язвы, ящура).

Промежуточное положение в классификации занимает группа санитарно-показательных микроорганизмов, которые сами могут быть неопасными, но присутствие которых в молоке и молочных продуктах в определенных, относительно больших количествах (сверх нормы) может свидетельствовать о возможности наличия патогенных. Технолог должен хорошо знать свойства, методы обнаружения и предупреждения развития бактерий группы кишечных палочек (БГКП), дрожжей и плесеней, маслянокислых бактерий, энтерококков, стафилококков, сульфитредуцирующих клостридий, бактерий рода протеус, энтеровирусов, а также значение показателя общей бактериальной обсемененности (КМАФАнМ) и методы его определения.

Все группы представленной классификации взаимосвязаны. Например, полезные и входящие в состав заквасок для многих видов продуктов молочнокислые бактерии являются причиной скисания молока; дрожжи и уксуснокислые бактерии, нормальные для кефира, могут вызывать пороки всех остальных кисломолочных продуктов; кишечная палочка является не только санитарно-показательным микроорганизмом, но может быть причиной пороков сыров и т. д. Кроме того, различные микроорганизмы молока находятся в очень сложных взаимоотношениях, среди которых можно привести примеры симбиотических (молочнокислые бактерии и дрожжи) и антагонистических (молочнокислые бактерии и гнилостная микрофлора).

## ВЫВОДЫ

1. В возникновении микробиологии молока и молочных продуктов как отдельного направления технической микробиологии большую роль сыграли работы Луи Пастера, который установил, что молочнокислое брожение вызывается бактериями, и разработал метод щадящей тепловой обработки пищевых продуктов — пастеризацию.

2. Основоположником отечественной микробиологии молока и молочных продуктов является Сергей Александрович Королев, который создал первую школу микробиологов молочной промышленности, провел комплексные исследования микробиологических процессов в молоке и молочных продуктах.

3. Основные направления современных исследований связаны с обеспечением качества и безопасности молочных продуктов, разработкой новых видов и штаммов заквасочной микрофлоры с производственно-ценными и функциональными свойствами, совершенствованием методов и средств микробиологического контроля.

4. Все микроорганизмы, встречающиеся в молоке и молочных продуктах, можно разделить на 3 основные группы: технически важная микрофлора, патогенные и санитарно-показательные микроорганизмы, которые определяют три важнейших аспекта производства молочных продуктов: качество, безопасность и их оценку.

# ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

## БАЗОВЫЙ УРОВЕНЬ

1. События и ученые, внесшие вклад в развитие микробиологии молока и молочных продуктов.
2. Тенденции, определяющие развитие микробиологии молока и молочных продуктов в настоящее время.
3. Актуальные направления в развитии микробиологии молока и молочных продуктов.
4. Классификация микроорганизмов в зависимости от их роли в молочной промышленности.

## ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ

1. Этапы развития микробиологии молока и молочных продуктов.
2. Причины обострения проблемы безопасности молочных продуктов.
3. Взаимосвязь групп микроорганизмов в классификации микроорганизмов по их роли в молочной промышленности.

## ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМЫ

Несмотря на повышение качества и совершенствование процессов обработки сырья, применение эффективных методов мойки и дезинфекции оборудования, повышение уровня санитарии и гигиены на производстве, в последние десятилетия наблюдается рост случаев заболеваний, связанных с употреблением пищевых, в том числе молочных, продуктов. В связи с этим проблема безопасности остается самой главной в молочной отрасли. Каковы причины этого явления? Предложите способы решения проблемы.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА И ИНТЕРНЕТ-ИСТОЧНИКИ

1. Абрамова, А. А. Разработка закваски для йогурта, обладающей низкой постокислительной активностью и продуцирующей экзополисахариды // <http://www.dissercat.com/content/razrabotka-zakvaski-dlya-iogurta-obladayushchei-nizkoi-postokislitelnoi-aktivnostyu-i-product#ixzz4emM4pmX>.
2. Банникова, Л. А. Микробиологические основы молочного производства : справочник / Л. А. Банникова, Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. — М. : Агропромиздат, 1987. — 400 с.
3. Волкова, И. Р. Разработка метода индикации бактериофагов, лизирующих молочнокислые бактерии // <http://www.dissercat.com/content/razrabotka-metoda-indikatsii-bakteriofagov-liziruyushchikh-molochnokislye-bakterii>.

4. Ганина, В. И. Техническая микробиология продуктов животного происхождения : учеб. пособие / В. И. Ганина, Н. С. Королева, С. А. Фильчакова. — М. : ДеЛи принт, 2008. — 352 с.

5. Гетман, Ю. Г. Исследование микробиологических аспектов производства лактулозы и бифидогенных добавок // <http://www.dissercat.com/content/issledovanie-mikrobiologicheskikh-aspektov-proizvodstva-laktulozy-i-bifidogennykh-dobavok#ixzz4emJOJF9x>.

6. Головин, М. А. Разработка пробиотической композиции с высокой способностью к редукции холестерина // [http://www.bio.msu.ru/res/Dissertation/684/DOC\\_FILENAME/Golovin\\_av.pdf](http://www.bio.msu.ru/res/Dissertation/684/DOC_FILENAME/Golovin_av.pdf).

7. Гриневиц, А. И. Исследование свойств покоящихся форм микроорганизмов и разработка методики их определения в молочной продукции с длительными сроками годности // <http://www.dslib.net/tehnologia-mjasa/issledovanie-svoystv-pokojawihjsja-form-mikroorganizmov-i-razrabotka-metodiki-ih.html>.

8. Залашко, М. В. Биотехнология переработки молочной сыворотки. — М. : Агропромиздат, 1990. — 192 с.

9. Залашко, М. В. Микробный синтез на молочной сыворотке / М. В. Залашко, Л. С. Залашко. — Минск : Наука и техника, 1976. — 272 с.

10. Королев, С. А. Основы технической микробиологии молочного дела. — 3-е изд. — М. : Пищевая промышленность, 1974. — 344 с.

11. Королева, Н. С. Санитарная микробиология молока и молочных продуктов / Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. — М. : Пищевая промышленность, 1980. — 256 с.

12. Короткая, Е. В. Исследование генетической стабильности молочнокислых микроорганизмов при замораживании и низкотемпературном хранении // <http://www.dissercat.com/content/issledovanie-geneticheskoi-stabilnosti-molochnokislykh-mikroorganizmov-pri-zamorazhivanii-i-#ixzz4emTCxf3K>.

13. Краткий обзор Российского рынка микробиологических заквасок за период 2009–2013 гг. // <http://propionix.ru/obzor-gynka-zakvasok>.

14. Кузнецова, О. В. Исследование микробиологических аспектов получения и переработки вторичного молочного сырья // <http://www.dissercat.com/content/issledovanie-mikrobiologicheskikh-aspektov-polucheniya-i-pererabotki-vtorichnogo-molochnogo-#ixzz4emJuxZyA>.

15. Молдаванова, А. В. Разработка антимикробной композиции для защиты поверхности молочных продуктов // <http://www.dissercat.com/content/razrabotka-antimikrobnoi-biokompozitsii-dlya-zashchity-poverkhnosti-molochnykh-produktov>.

16. Свириденко, Г. М. Теоретическое обоснование и практическая реализация системы мониторинга микробиологических рисков в сыроделии // [http://molochnoe.ru/old/sites/default/files/avtoreferat\\_dissertacii\\_g.m.\\_sviridenko.pdf](http://molochnoe.ru/old/sites/default/files/avtoreferat_dissertacii_g.m._sviridenko.pdf).

17. Степаненко, П. П. Микробиология молока и молочных продуктов : учебник. — Сергиев Посад : Все для Вас — Подмоскowie. — 2002 // [http://mppnik.ru/load/molochnaja\\_promyshlennost/stepanenko\\_p\\_p\\_mikrobiologija\\_moloka\\_i\\_molochnykh\\_produktoy/5-1-0-110](http://mppnik.ru/load/molochnaja_promyshlennost/stepanenko_p_p_mikrobiologija_moloka_i_molochnykh_produktoy/5-1-0-110).

18. Толстогузова, Т. Т. Разработка технологии биопродуктов для функционального питания // <https://esstu.ru/uportal/dissertation/downloadFile.htm%3bjsessionid=60DBEC3C01FD78E34F580B710752B969?type=avtoreferat&typeId=446>.

## 2. ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ПРОИЗВОДСТВЕ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

### 2.1. СИСТЕМАТИКА И ОБЩИЕ СВОЙСТВА МОЛОЧНОКИСЛЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Молочнокислые бактерии — это группа микроорганизмов-прокариот, отличающихся способностью образовывать молочную кислоту как основной конечный продукт метаболизма (анаэробного сбраживания) углеводов. Молочнокислые бактерии являются хемоорганогетеротрофами и используют глюкозу, лактозу и некоторые другие сахара как источник углерода и энергии.

Классификация молочнокислых микроорганизмов постоянно совершенствуется. В соответствии с «Определителем бактерий Берджи» (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, переведен на русский язык, издан в 1997 г.) они относятся ко второй категории «Грамположительные зубактерии, имеющие клеточные стенки»; молочнокислые кокки кратко рассмотрены в группе 17 «Грамположительные кокки», молочнокислые палочки — в группе 19 «Грамположительные неспорообразующие палочки правильной формы».

Новое издание справочника Берджи по бактериологической систематике (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, издан на английском языке в 5 томах в 2001–2011 гг.) относит все молочнокислые бактерии к порядку *Lactobacillales*, включающему семейства *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae*, *Streptococcaceae*. Кроме хорошо изученных и применяющихся в качестве заквасочной микрофлоры представителей родов *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* и *Streptococcus* к молочнокислым также относят бактерии родов *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Sporolactobacillus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* и *Weissella*. Место молочнокислых микроорганизмов в общей системе живого мира показано на рисунке 2.1.

В природе молочнокислые микроорганизмы встречаются на поверхности растений (например, на листьях, фруктах, овощах, зернах), в молоке, на наружных и внутренних эпителиальных тканях животных. Молочнокислые бактерии играют важную роль в живой природе, сельском хозяйстве и нормальной жизнедеятельности человека. Широко используются в молочной отрасли, а также при квашении овощей, получении теста, какао, силоса.

Общие свойства молочнокислых микроорганизмов: грамположительные, неподвижные, неспорообразующие прокариоты, факультативные анаэробы или микроаэрофилы, обладают слабой протеолитической и липолитической активностью. Элективные среды — обезжиренное молоко, гидролизованное молоко

(ГМ) и агар гидролизованного молока (АГМ). Имеют сложные питательные потребности, им необходимы аминокислоты, витамины, микроэлементы.

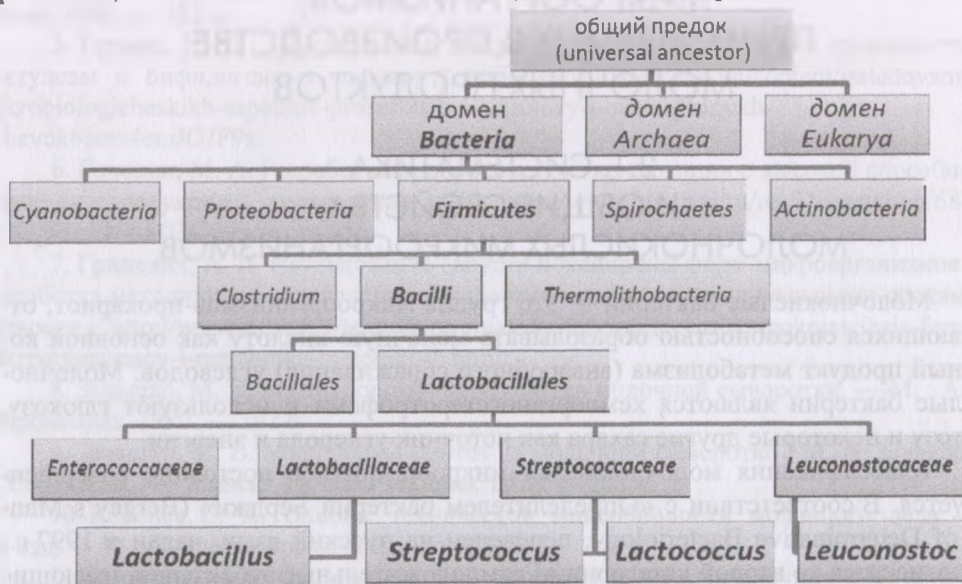


Рис. 2.1

Классификация молочнокислых микроорганизмов (жирным шрифтом выделены таксоны бактерий, применяемых в молочной отрасли)

Основные источники энергии для молочнокислых микроорганизмов — моно- и дисахариды (глюкоза, лактоза, сахароза, мальтоза), некоторые штаммы сбраживают полисахариды, а также органические кислоты (лимонная, яблочная, пировиноградная, фумаровая, уксусная и муравьиная) в концентрации 30–50 мкг/мл. Из жирных кислот рост молочнокислых микроорганизмов стимулируют олеиновая, линолевая, а также линоленовая. При отсутствии углеводов и органических кислот молочнокислые бактерии могут использовать в качестве источника энергии аминокислоты.

В основе классификации молочнокислых микроорганизмов лежат два основных пути брожения гексоз. В условиях избытка глюкозы и ограниченного поступления кислорода гомоферментативные бактерии катаболизируют один моль глюкозы по механизму гликолиза (путь Эмбдена — Мейергофа — Парнаса) с получением двух молей пирувата. Внутриклеточный окислительно-восстановительный баланс поддерживается за счет окисления NADH, сопровождающегося превращением пирувата в молочную кислоту при помощи лактатдегидрогеназы. От стереоспецифичности лактатдегидрогеназы и наличия лактатрацемазы зависит, какой энантиомер молочной кислоты будет превалировать в продуктах — L-, D-молочная кислота или же DL-рацемат. Продуктом гомоферментативного молочнокислого брожения является молочная кислота, которая составляет не менее 90% всех продуктов брожения. Этот процесс дает два моля АТФ на моль потребляемой глюкозы. Такое брожение вызывают

представители родов *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* и группа термолактобацилл.

Гетероферментативные молочнокислые микроорганизмы используют пентозофосфатный путь. Один моль глюкозо-6-фосфата первоначально превращается в 6-фосфоглюконат и затем декарбоксилируется с получением одного моля  $\text{CO}_2$ . Образующийся из ксилулозо-5-фосфата глицеральдегид-3-фосфат окисляется до молочной кислоты, ацетилфосфат восстанавливается до этанола, некоторые гетероферментативные молочнокислые бактерии окисляют полученный этанол частично или полностью до ацетата. Таким образом, при гетероферментативном молочнокислом брожении образуется не только молочная кислота, но и уксусная кислота, этанол, двуокись углерода, могут также образовываться диацетил и ацетоин (ароматообразующие вещества). Строгими гетероферментативными молочнокислыми бактериями являются представители родов *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella* и группы стрептолактобактерий.

Большинство молочнокислых микроорганизмов не способны синтезировать органические соединения азота, и поэтому нуждаются в присутствии их в питательной среде. В частности, им необходим ряд аминокислот: аргинин, цистеин, глутаминовая кислота, лейцин, фенилаланин, триптофан, тирозин, валин. Все виды лактобацилл нуждаются в пантотеновой кислоте, биотине, никотиновой кислоте, а гетероферментативным бактериям нужен тиамин. Для роста и развития молочнокислым микроорганизмам нужны соединения меди, железа, натрия, калия, фосфора, йода, серы, магния и марганца.

К важным характеристикам молочнокислых микроорганизмов, применяющихся в молочной отрасли, относятся:

— **предельная кислотность ( $K_p$ )** — максимальная кислотность, создаваемая культурой в молоке, измеряется в градусах Тернера ( $^{\circ}\text{T}$ );

— **энергия кислотообразования (ЭК)** характеризует активность сбраживания лактозы и определяется по времени образования сгустка в молоке (для этого титруемая кислотность должна быть около  $60^{\circ}\text{T}$ , что соответствует уровню рН изоэлектрической точки казеина) при внесении 5% закваски, или по скорости накопления молочной кислоты.

— **органолептические свойства сгустка** — консистенция сгустка, вкус и запах, должны быть характерными для определенной продукции (например, однородная плотная консистенция, приятный чистый кисломолочный вкус без посторонних привкусов и запахов, выраженный аромат и т. п.).

Благодаря многолетнему опыту использования в молочной промышленности применяемые виды молочнокислых бактерий имеют международный GRAS-статус (Generally Recognized as Safe в целом признаны безопасными). Способность бактерий вызывать молочнокислое брожение дает следующие преимущества при их использовании в молочной промышленности:

— кисломолочные продукты имеют хорошие органолептические показатели и легко усваиваются организмом;

— молочная кислота подавляет рост вредной микрофлоры, что обеспечивает высокую стойкость и диетическую ценность кисломолочных продуктов;

— следствием высокой скорости сбраживания лактозы является относительно небольшая продолжительность технологических процессов производства кисломолочных продуктов.

Некоторые молочнокислые микроорганизмы способны вырабатывать бактериоцины, которые также подавляют рост нежелательной микрофлоры. Кроме того, ряд молочнокислых палочек относят к пробиотикам, которые используются для получения лечебно-профилактических продуктов.

Молочнокислые микроорганизмы по морфологическим признакам делят на кокки и палочки. Размер клеток у различных культур одних и тех же видов молочнокислых бактерий зависит от состава среды, присутствия кислорода, способа инкубации.

## 2.2. МОЛОЧНОКИСЛЫЕ КОККИ: ЛАКТОКОККИ, СТРЕПТОКОККИ, ЛЕЙКОНОСТОКИ

Молочнокислые кокки относятся к семейству *Streptococcaceae* и представлены 3 родами — лактококков (*Lactococcus*), стрептококков (*Streptococcus*) и лейконостоков (*Leuconostoc*).

Представители рода *Lactococcus* выглядят под микроскопом как сферические или овальные клетки диаметром 0,5–1,5 мкм, располагающиеся в виде отдельных одиночных клеток, попарно или короткими цепочками (рис. 2.2а). Лактококки — мезофилы (оптимальная температура 30°C). Вызывают, как правило, гомоферментативное брожение, с образованием L+ молочной кислоты. На плотной среде АГМ с мелом образуют мелкие (менее 1 мм) каплевидные колонии с ровным краем и зонами просветления, так как преобразуют нерастворимый карбонат кальция в растворимый лактат кальция. Глубинные колонии имеют форму лодочки или зерна чечевицы.

Типовой вид — *Lac. lactis* (старое название — *Streptococcus lactis*). В молочной промышленности используют подвиды:

— *Lac. lactis subsp. lactis* (молочный лактококк, сокр. *Lac. lactis*) вызывает гомоферментативный тип брожения, активный кислотообразователь, ЭК 4–7 ч,  $K_n$  120°Т; некоторые штаммы продуцируют антибиотик низин;

— *Lac. lactis subsp. cremoris* (сливочный лактококк, сокр. *Lac. cremoris*) вызывает гомоферментативный тип брожения, ЭК 6–8 ч,  $K_n$  110–115°Т; образует антибиотик диплококцин; некоторые штаммы способны образовывать слизистую экзополисахаридную капсулу;

— *Lac. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis* (биовариант молочного лактококка, образующий диацетил; сокр. *Lac. diacetylactis*) вызывает гетероферментативный тип брожения; ЭК более 16 ч,  $K_n$  70–100°Т; может образовывать глубинные колонии в виде кусочков ваты.

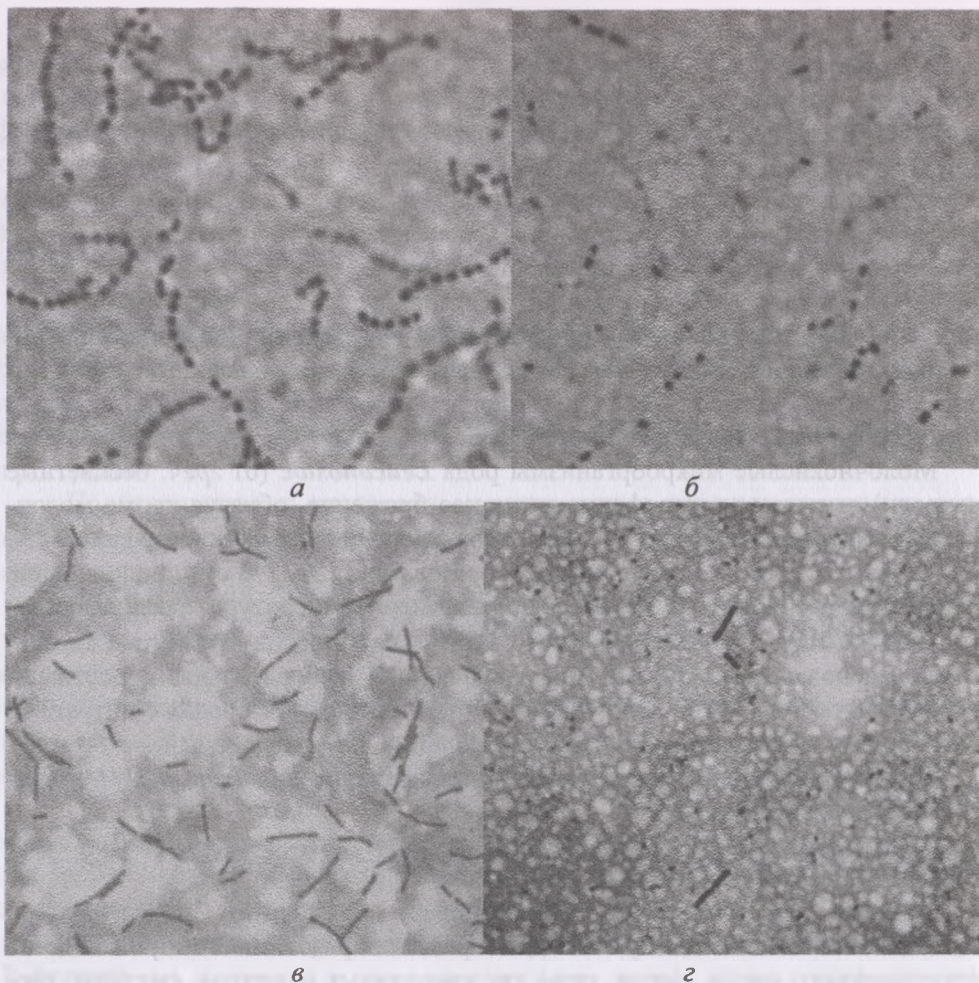


Рис. 2.2

Морфология клеток заквасочной микрофлоры (вид фиксированных препаратов, окрашенных метиленовым синим, при увеличении 90×15 с использованием светового микроскопа Primo Star iLED Carl Zeiss):  
 а — *Lactococcus lactis* spp.; б — *Streptococcus thermophilus*;  
 в — *Lactobacillus acidophilus*; г — *Lactobacillus casei* + *Lactococcus lactis*.

В молоке лактококки образуют ровный, плотный сгусток с колющейся или сметанообразной консистенцией, с приятным чистым кисломолочным вкусом и запахом. Лактококки входят в состав заквасок для кисломолочных напитков, сметаны, творога, кислосливочного масла, сыров.

В молочной промышленности используется один вид рода *Streptococcus* — *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (сокр. *Str. thermophilus*), термофильный стрептококк. По морфологии это шарообразные или крупные эллипсоидные клетки, обычно в виде длинных цепочек (рис. 2,2б). На плотных

(рис. 2.26). На плотных средах *Str. thermophilus* образует мелкие колонии с зернистой структурой, глубинные колонии — в виде чечевичек с выростами. В небольших количествах образует ацетоин, поэтому занимает промежуточное положение между гомо- и гетероферментативными микроорганизмами (факультативный гетероферментативный), термофил (оптимальная температура 40°C), энергичный кислотообразователь ЭК 3,5–6 ч,  $K_p$  110–115°Т. *Str. thermophilus* чувствителен к пенициллину и стрептомицину, поэтому используется как тест-культура для их определения в молоке.

*Str. thermophilus* образует экзополисахаридные капсулы, в молоке — вязкие тягучие сгустки. Входит в состав заквасок для ряженки, варенца, йогурта, Мечниковской простокваши, а также используется при производстве кисломолочных напитков низкой жирности и творога ускоренной выработки, сыров с высокой температурой второго нагревания.

Молочнокислые микроорганизмы рода *Leuconostoc* (от греч. бесцветные водоросли) вызывают гетероферментативное брожение, образуя кроме молочной кислоты этанол, ацетоин, диацетил, бутиленгликоль,  $CO_2$ ; мезофилы (25–28°C). Лейконостоки — слабые кислотообразователи (ЭК 2–3 суток или вообще не свертывают молоко),  $K_p$  50–80°Т; оптимальная температура ароматообразования — 18–20°C. В молоке образуют сферические, иногда вытянутые клетки, которые располагаются парами или цепочками. Требовательны к ростовым факторам (витамины, аминокислоты, глюкоза). На плотных средах с цитратами образуют мелкие гладкие серовато-белые колонии, рост медленный.

Для молочной промышленности имеет значение вид *Leu. mesenteroides*, который включает 3 подвида:

- *Leu. mesenteroides* subsp. *cremoris*;
- *Leu. mesenteroides* subsp. *dextranicum*;
- *Leu. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*.

Лейконостоки используются для ароматообразования в производстве кисломолочного масла, сыров, реже кисломолочных напитков, сметаны, творога.

### 2.3. МОЛОЧНОКИСЛЫЕ ПАЛОЧКИ: ТЕРМОБАКТЕРИИ, БЕТАБАКТЕРИИ, СТРЕПТОБАКТЕРИИ

Молочнокислые палочки широко распространены в окружающей среде. Они обнаружены в молочных, хлебных, мясных, рыбных продуктах, в воде, сточных водах, пиве, вине, фруктах, соленых овощах, силосе, кислом тесте, на эпителиальных тканях животных.

В настоящее время молочнокислые палочки относят к семейству *Lactobacillaceae* (ранее использовалось название *Lactobacteriaceae*, так как все молочнокислые бактерии не образуют спор), роду *Lactobacillus* (ранее *Lactobacterium*).

В связи с большим разнообразием молочнокислых палочек (идентифицировано более 180 видов) при их классификации и идентификации выделенных штаммов кроме морфологических особенностей, культуральных свойств и ферментативной активности, учитывают также генотипические характеристики: содержание гуанина с цитозином (Г + Ц) в молекуле ДНК, выраженное в мольпроцентах, гомологию ДНК/ДНК различных штаммов и видов, состав и расположение аминокислот межпептидных связей в пептидогликане клеточной стенки (тип пептидогликана) и др.

Лактобациллы представляют собой палочки размером  $4-15 \times 0,5-0,6$  мкм, встречаются изогнутые и булавовидные формы (коринеформы), а также очень короткие палочки (рис. 2.2в). Деление клеток происходит в одной плоскости, способность к образованию цепочек характерна для определенных видов и даже штаммов, причем интенсивность образования цепочек зависит от фазы роста и рН среды.

По отношению к кислороду молочнокислые палочки проявляют толерантность, лучше растут при пониженном содержании кислорода или в атмосфере, содержащей 5–10%  $\text{CO}_2$ .

При развитии в молоке лактобациллы вызывают образование однородного плотного сгустка с приятным кисло-молочным запахом и вкусом. При росте молочнокислых бактерий в гидролизованном молоке наблюдается помутнение среды, осаждение клеток вскоре после прекращения роста. Осадок однородный и гомогенный, редко зернистый или слизистый. Поверхностная пленка никогда не образуется.

На плотных питательных средах (агар с гидролизованным молоком и мелом, МРС-агар, селективная среда ЛС) лактобациллы формируют округлые мелкие, размером 2–5 мм, гладкие блестящие колонии серо-белого цвета со сферической поверхностью (S-формы). Однако в некоторых случаях наблюдаются колонии шероховатые, волокнистые, вырастающие в субстрат (R-формы).

Лактобациллы лучше растут в немного подкисленных средах с начальной рН 6,4, оптимальный уровень рН составляет 5,5–6,2. Скорость роста снижается при нейтральной и слабощелочной реакции, размножение прекращается при достижении рН 3,6–4,0.

Лактобациллы, применяющиеся в молочной отрасли, в зависимости от типа брожения делятся на три группы: термобактерии, стрептобактерии и бета-бактерии.

**Термобактерии** — облигатные гомоферментативные молочнокислые палочки. По морфологии это одиночные палочки длиной около 3–8 мкм, иногда образуют цепочки. Температурные границы роста для термобактерий составляют 20–55°C, оптимальная температура 37–45°C. Термобактерии — активные кислотообразователи, ЭК 4–5 ч,  $K_p$  200–350°Т. Глубинные колонии термобактерий могут быть темными, желтовато-бурыми, иногда с короткими отходящими нитями. Поверхностные колонии более крупные, локонообразные или зернистые.

В молочной промышленности используются следующие виды и подвиды:

— *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* (сокр. *Lb. bulgaricus*, болгарская палочка, применяется в производстве йогурта, Мечниковской простокваши);

— *Lb. delbrueckii subsp. lactis* (сокр. *Lb. lactis*, молочная палочка, применяется в сыроделии);

— *Lb. delbrueckii subsp. delbrueckii* (палочка Дельбрюка, применяется в сыроделии);

— *Lb. acidophilus* (ацидофильная палочка, вырабатывает ряд антибиотиков, в том числе ацидофилин и лактоцидин, способна приживаться в кишечнике и подавлять развитие гнилостных бактерий, используется для получения продуктов с лечебно-профилактическим действием; морфология показана на рисунке 2.26);

— *Lb. helveticus* (швейцарская палочка, применяется в сыроделии).

**Стрептобактерии** — факультативные гетероферментативные палочки, обычно тоньше и меньше, чем термобактерии, располагаются цепочками. Температурные границы роста — 15–38°C, мезофилы 30°C, ЭК 2–3 суток, К<sub>n</sub> 180°Т, высокая протеолитическая активность. Глубинные колонии стрептобактерий имеют лодочкообразную форму.

В молочной промышленности используются следующие виды и подвиды:

— *Lb. plantarum* (палочка плантарум, образует антибиотик лактолин, угнетающе действует на маслянокислые бактерии, применяется в сыроделии);

— *Lb. casei subsp. casei* (сырная палочка, применяется в сыроделии; морфология показана на рисунке 2.22);

— *Lb. casei subsp. rhamnosus* (палочка рамнозус, применяется в сыроделии, для получения пробиотических продуктов).

**Бетабактерии** — облигатные гетероферментативные лактобациллы; короткие палочки, мезофилы, среди палочек — самые слабые кислотообразователи, молоко не сквашивают, при добавлении факторов роста кислотность молока может достигать 120°Т.

*Lb. brevis*, *Lb. fermentum* участвуют в созревании твердых сыров с низкой температурой второго нагревания, некоторые штаммы используются как пробиотики.

*Lb. kefir* выделены из кефирных зерен, образуют строму грибка.

Некоторые виды молочнокислых палочек относятся к широко применяемым пробиотикам. В настоящее время пробиотики получили широкое распространение и поступают к потребителю в виде фармацевтических препаратов, биологически активных добавок (БАД) к пище, а также натуральных пищевых продуктов, особое место среди которых занимают кисломолочные продукты, ферментированные пробиотическими микроорганизмами или обогащенные ими.

## 2.4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ, КЛАССИФИКАЦИЯ И МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ПРОБИОТИКОВ

Идея целенаправленного изменения состава микрофлоры желудочно-кишечного тракта принадлежит основоположнику отечественной микробиологии И. И. Мечникову. Предложенный им метод регулярного употребления живых культур молочнокислых бактерий (в частности, болгарской палочки) в качестве антагонистов гнилостных микробов заложил основы современных представлений о бактериотерапии и профилактике заболеваний, связанных с нарушениями состава нормальной микрофлоры кишечника.

Lilly and Stillwell впервые ввели термин «пробиотики» в 1965 г. для обозначения факторов роста, продуцируемых микроорганизмами. Однако в 1989 г. этот термин был популяризован R. Fuller как обозначение живых микробных пищевых добавок, которые благоприятно влияют на хозяина путем улучшения его кишечного микробного баланса.

Это определение позже было расширено с включением других полезных эффектов, таких как иммуномодулирование. В настоящее время считается, что пробиотики — это «лекарства» двадцать первого века.

Всемирная организация здравоохранения (The World Health Organization, 2002) дает такое определение: пробиотики — это живые микроорганизмы, которые при введении в адекватных количествах приносят пользу для здоровья.

В соответствии с ГОСТ Р 52349-2005 «Продукты пищевые. Продукты пищевые функциональные. Термины и определения» пробиотик — это функциональный пищевой ингредиент в виде полезных для человека непатогенных и нетоксикогенных живых микроорганизмов, обеспечивающий при систематическом употреблении человеком в пищу непосредственно в виде препаратов или биологически активных добавок к пище, либо в составе пищевых продуктов благоприятное воздействие на организм человека в результате нормализации состава и/или повышения биологической активности нормальной микрофлоры кишечника.

К основным критериям отбора пробиотиков можно отнести следующие:

— пробиотик должен быть непатогенным, чувствительным к обычным антибиотикам, не способным приобретать резистентность к антибиотикам или плазмиды вирулентности;

— пробиотик должен выдерживать транзит через желудочно-кишечный тракт, это означает устойчивость к солям желчных кислот, низким рН и протеазам при проверке *in vitro*;

— пробиотик должен обладать способностью приживаться на клетках кишечника и эффективно блокировать области (ниши), которые могут быть заняты патогенами;

— пробиотик должен расти в условиях производства и сохранять жизнеспособность при обычных условиях хранения;

— статус «пробиотика», т. е. его положительный эффект на здоровье должен быть подтвержден клиническими исследованиями.

Микроорганизмы, используемые как пробиотики, чаще всего относятся к родам *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, но встречается упоминание о других бактериях-пробиотиках (*Propionibacterium*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Escherichia* и др.), а также дрожжей (*Saccharomyces boulardi*).

Можно выделить несколько поколений пробиотиков.

1. Монокомпонентные препараты состоят из штамма одного микроорганизма представителя нормальной микрофлоры кишечника (например, бифидумбактерин, основной микрофлорой которого являются бифидобактерии, нормофлор и биобактон, основные представители микрофлоры — лактобактерии, колибактерин включает *Escherichia coli*).

2. Препараты, не заселяющие кишечник, а конкурентно вытесняющие условно-патогенные и патогенные микроорганизмы (бактисубтил и биоспорин содержат *Bacillus subtilis*, энтерол — *Saccharomyces boulardi*).

3. Поликомпонентные препараты или симбиотики состоят из нескольких штаммов бактерий (например, бификол включает *Escherichia coli* и бифидобактерии, бифитон — бифидобактерии и пропионобактерии).

4. Синбиотики содержат штаммы бактерий нормальной флоры с добавлением стимуляторов роста и размножения (бифилиз содержит бифидобактерии и лизоцим, аципол — *Lactobacillus acidophilus* и полисахарид кефирных грибков).

Следует отметить, что пробиотические свойства характерны для определенных штаммов бактерий. Выявленные эффекты одного штамма не могут быть экстраполированы на другой. Более того, некоторые штаммы не рекомендуются для использования человеком. Ниже приведены примеры штаммов *Lactobacillus acidophilus*, входящих в отечественные пробиотические препараты:

— *Lactobacillus acidophilus*, штаммы NK1, 100аш и КЗШ24 — лекарственный препарат Ацилакт;

— *Lactobacillus acidophilus*, штаммы NK1, NK2, NK5 и NK12 — лекарственный препарат Аципол;

— *Lactobacillus acidophilus*, штамм 126 — лекарственный препарат Биобактон сухой;

— *Lactobacillus acidophilus*, штамм LA-5 — БАД Бифиформ Комплекс.

Выделяют несколько основных механизмов положительного влияния пробиотиков на организм:

— ингибирование роста потенциально вредных микроорганизмов в результате продукции антимикробных субстанций; конкуренции с ними за рецепторы адгезии и питательные вещества; активации иммунно-компетентных клеток и стимуляции иммунитета;

— восстановление и оптимизация функционирования биопленки, выстилающей слизистую пищеварительного тракта;

— стимуляция роста представителей индигенной «дружественной» флоры в результате продукции витаминов и других ростостимулирующих факторов; нормализация pH; нейтрализация токсинов;

— изменение микробного метаболизма, ведущего к повышению или снижению синтеза и активности бактериальных ферментов и, как следствие этого, продукции соответствующих метаболитов (например, глутамина, аргинина, витаминов, пептидогликанов и т. д.), обладающих способностью местно или после проникновения в кровь и другие биологические жидкости макроорганизма непосредственно вмешиваться в метаболическую активность клеток соответствующих органов и тканей и модулировать его морфокинетические характеристики, физиологические функции, биохимические и поведенческие реакции;

— прямые эффекты метаболитов пробиотиков после их всасывания из пищеварительного тракта на ферментативные и иные клеточные реакции гормональных, нервных, выделительных, иммунных и других органов и тканей.

В настоящее время пробиотики получили широкое распространение и активно используются. Поступают они к потребителю в виде фармацевтических препаратов, биологически активных добавок (БАД) к пище, а также пробиотических кисломолочных продуктов.

## 2.5. БИФИДОБАКТЕРИИ КАК ПРОБИОТИЧЕСКАЯ МИКРОФЛОРА

Бифидобактерии являются одной из основных категорий функционального питания. Это доминантные представители нормальной кишечной микрофлоры человека и животных, которые играют весьма существенную роль в нормализации белкового липидного и минерального обмена организма-хозяина за счет продукции большого количества различных ферментов и других биологически активных веществ. Благодаря антагонистической активности бифидобактерии повышают резистентность человека к ряду патогенных микроорганизмов, а также оказывают позитивное регулирующее воздействие на общий иммунологический статус макроорганизма. Доказано их радиопротекторное и противоопухолевое действие, положительное влияние на слизистую оболочку кишечника. Бифидобактерии способны нейтрализовать токсины, выполняя роль второй печени. Все эти свойства бифидобактерий позволили использовать их как основу для создания лечебно-профилактических препаратов и продуктов функционального питания.

Впервые бифидобактерии из стула грудных детей выделил Тиссье в 1900 г. Из-за способности ветвиться их назвали *Bacillus bifidus communis* (от *lat.* *bifidus* — расщепленный, раздвоенный). Первоначально бифидобактерии были отнесены к роду *Lactobacillus* и рассматривались как вариант вида *Lb. acidophilus*. Однако по способности образовывать булавовидные формы и сбраживать пентозы бифидобактерии близки к коринебактериям, а по способности ветвиться — к актиномицетам. Наличие особого пути сбраживания углеводов послужило основанием к выделению бифидобактерий в отдельный самостоятельный род. В 9-м издании определителя Берджи бифидобактерии относятся к роду *Bifidobacterium*, семейству *Actinomycetaceae*.

В соответствии с последним изданием Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, род *Bifidobacterium* входит в семейство *Bifidobacteriaceae*, порядок *Bifidobacteriales*, класс *Actinobacteria*, тип *Actinobacteria*, царство *Bacteria*. Основные виды этого рода: *B. adolescentis*, *B. angulatum*, *B. animalis*, *B. asteroides*, *B. bifidum*, *B. boum*, *B. breve*, *B. catenulatum*, *B. choerinum*, *B. coryneforme*, *B. cuniculi*, *B. dentium*, *B. gallicum*, *B. gallinarum*, *B. indicum*, *B. longum*, *B. magnum*, *B. merycicum*, *B. minimum*, *B. pseudocatenulatum*, *B. pseudolongum*, *B. psychraerophilum*, *B. pullorum*, *B. ruminantium*, *B. saeculare*, *B. scardovii*, *B. simiae*, *B. subtile*, *B. thermacidophilum*, *B. thermophilum*, *B. urinalis*.

Морфологически бифидобактерии представляют собой неспорообразующие грамположительные неподвижные палочки размером (0,5–1,3×1,5–8 мкм), зернистые. Полиморфизм является их отличительной характеристикой. Изучены прямые и разветвленные палочки, Y- или V-формы, булавовидные и лопатовидные формы. Они образуют ответвленные и разделенные перегородками палочковидные формы, очень напоминающие актиномицеты и коринебактерии. Это свойство отличает бифидобактерии от лактобацилл. Клетки располагаются одиночно, парами, иногда цепочками, палисадом или розетками. Среди штаммов, выделенных из кишечника взрослых людей, преобладают палочковидные и булавовидные формы; ветвящиеся палочки чаще всего встречаются у детей грудного возраста.

Сразу после выделения и выращивания культур бифидобактерий на печеночном агаре или молоке ветвление исчезает, клетки становятся грамвариабельными, слабее окрашиваются кислыми и щелочными красителями, появляется много гранулированных форм.

Морфологические изменения бифидобактерий могут быть вызваны условиями культивирования и хранения, возрастом культуры, количеством пересевов, добавлением различных ингредиентов к среде и т. д. Бифидобактерии при развитии в неблагоприятных условиях (неподходящая кислотность среды, температура культивирования, недостаток питательных компонентов среды, присутствие кислорода) способны образовывать разбухшие инволюционные шаровидные формы. В средах, обеспечивающих хороший рост, но не создающих условий для нормального синтеза клеточной стенки, например на агаре с томатным соком, появляются глобулярные формы, что можно предотвратить добавлением к среде трипсинового гидролизата молока. В настоящее время установлено, что ветвление происходит в среде, неполноценной в отношении источников питания.

Разнообразны колонии бифидобактерий, выросшие на плотных питательных средах в анаэробных условиях: плоские, полушаровидные, блестящие, шероховатые, окруженные валиком, имеющие более темный центр. Цвет колоний от белого и серого до темно-коричневого, по форме напоминают зерно гречихи или чечевицы. Размеры колоний от 0,5 до 5 мм.

При первичном выделении бифидобактерии являются строгими анаэробами. При культивировании в лабораторных условиях эти микроорганизмы приобретают способность развиваться в присутствии некоторого количества

кислорода, а в высокопитательных средах могут расти и в полностью аэробных условиях. Для различных штаммов чувствительность к кислороду неодинакова, что обусловлено различиями в механизме брожения. Некоторые виды могут расти в атмосфере воздуха, обогащенного 10% CO<sub>2</sub>. Бифидобактерии не образуют каталазу, H<sub>2</sub>S и индол, не восстанавливают нитраты в нитриты, не обладают (за исключением штаммов из рубца) уреазной активностью, не разжижают желатин. Они преимущественно не образуют газ из глюкозы, не продуцируют фенол, не образуют аммиака из аргинина. При развитии в лакмусовом молоке бифидобактерии вызывают частичное или полное его восстановление. Эти микроорганизмы способны развиваться в бульоне из гидролизованного молока с 2%-ным раствором поваренной соли, 20% желчи, концентрации фенола 1:250.

Бифидобактерии не накапливают токсины, не патогенны для человека, не обладают гемолитическими свойствами, не образуют пигменты. Время генерации бифидобактерий при оптимальном режиме культивирования составляет 4–7 ч. Биокинетическая зона для роста бифидобактерий составляет 20–45,5°C, оптимальная температура развития большинства видов бифидобактерий равна 36–38°C. Интервал активной кислотности для роста бифидобактерий составляет от 5,0 до 9,5, оптимальным для большинства видов является значение pH 6,5–7,0.

Бифидобактерии являются облигатными анаэробами, получающими энергию в результате брожения. Спектр сахаров, сбраживаемых этими бактериями, довольно широк, они активно сбраживают сахарозу, галактозу, фруктозу, мальтозу, мелибиозу, раффинозу, лактозу и др. Существует определенная связь между ферментативной активностью бифидобактерий и их адаптацией к определенному типу макроорганизмов.

Антагонистическая активность бифидобактерий определяется рядом факторов, в том числе образованием антибиотических веществ (получено бактерицидное вещество бифилонг, продуцируемое *B. longum*). Также антагонистическое действие связывают с образованием бифидобактериями уксусной и молочной кислот, в результате чего происходит снижение pH содержимого кишечника, причем главную роль в этом *in vitro* и *in vivo* играет уксусная кислота. В настоящее время антагонизм связывают также с образованием бифидобактериями жирных кислот с короткой цепью.

Так как бифидобактерии являются важным элементом кишечной микрофлоры, это обстоятельство в значительной степени влияет на потребности этих микроорганизмов при выращивании *in vitro*. Их постоянным местом обитания является кишечник человека и животных, где все вещества находятся в легкоусвояемом виде, поэтому часть функций синтеза и расщепления веществ утрачена. Из-за подобной биосинтетической недостаточности бифидобактерии нуждаются в широком спектре факторов роста.

Этим микроорганизмам необходимы: биотин, пантотеновая кислота, цистеин, рибофлавин, пуриновые и пиримидиновые основания, пептиды и аминокислота, кофермент А, олигосахариды, некоторые ненасыщенные жирные кислоты, витамины группы В. Бифидобактерии нуждаются в азоте, источником которого могут являться аммиак, аммонийные соли, дрожжевой автолизат. Веществ

ва пептидной природы также важны для них: это ди-, три-, тетрапептиды, а также свободные аминокислоты: лизин, пролин, серин, аланин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты.

Минеральный состав среды в большой степени влияет на рост бифидобактерий. Им необходимы железо, магний, фосфаты, хлориды калия и натрия, марганец. Натрий ускоряет развитие бифидобактерий, повышает выход биомассы. Магний влияет на функциональную деятельность биологических мембран.

Наиболее изученные виды бифидобактерий, применяющиеся как пробиотики в молочной промышленности: *B. bifidum* (типовой), *B. adolescentis*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*.

Штаммы рода *Bifidobacterium*, используемые для производства бифидосодержащих пробиотиков, депонируют в официальных коллекциях.

Производственные штаммы рода *Bifidobacterium* проверяют по культуральным, тинкториальным, морфологическим и биохимическим свойствам, безопасности (in vitro и in vivo). Определение проводят в соответствии с ОФС «Производственные пробиотические штаммы и штаммы для контроля пробиотиков» и «Безопасность пробиотиков в тестах in vivo», которые могут быть дополнены молекулярно-генетическими методами.

Например, на препаратах штамма *Bifidobacterium bifidum 1*, окрашенных по Граму, должны присутствовать грамположительные неподвижные палочки длиной от 4,0 до 5,0 мкм с бифуркацией или утолщением на одном или двух концах, располагающиеся в виде отдельных клеток или скоплений (рис. 2.3а). В анаэробных условиях на поверхности среды МРС-5 через 72 ч инкубации при температуре  $38 \pm 1^\circ\text{C}$  *B. Bifidum 1* образует круглые мелкие белые колонии; в полужидких средах — печеночной среде Блаурокка, казеиново-дрожжевой (КД-5), гидролизатно-молочной (ГМ) — бактерии вырастают в виде рыхлой массы, оставляя прозрачную верхнюю часть среды (зона аэриоза); отдельные колонии бифидобактерий при росте на печеночной среде Блаурокка имеют форму мелких «гвоздей» белого цвета, образующих при встряхивании крошковатую массу (рис. 2.3б).

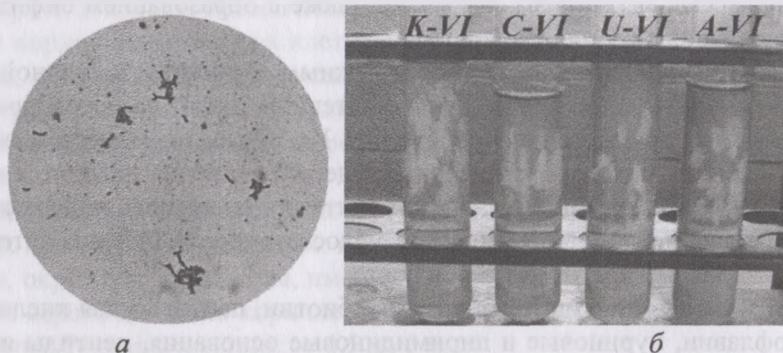


Рис. 2.3

Морфология клеток и колонии *B. Bifidum 1*, выращенных в среде Блаурокка

Оптимальная температура роста *B. Bifidum 1*  $38\pm 1^\circ\text{C}$ , фаза максимального накопления микробных клеток заканчивается к 44–48 ч. При посеве культуры, предварительно выращенной на печеночной среде Блаурокка или КД-5, в обезжиренное молоко в объеме 5–10% при инкубации в течение 72–96 ч штамм *B. bifidum 1* вызывает только закисление молока (до  $40\text{--}50^\circ\text{T}$ ) без свертывания.

Бифидобактерии выпускают в виде бакконцентратов (например, бифидумбактерин) и включают в кисломолочные продукты. Проблема заключается в том, что бифидобактерии плохо развиваются в молоке. Для стимулирования роста их вносят вместе с другими молочнокислыми микроорганизмами (бифидок, ацидобифидин), используют специальные штаммы, приспособленные к росту в молоке, или добавляют бифидогенные факторы роста (экстракты дрожжей, картофеля, сои, гидролизаты казеина, некоторые минеральные соли).

## 2.6. СИМБИОЗ КЕФИРНОГО ГРИБКА

Первое сообщение о кефирных грибах, применяющихся для получения целебного кисломолочного напитка на Кавказе, было сделано в 70-х гг. XIX в. О возникновении кефирных грибов точных данных нет. По одной из гипотез, кефирные грибки возникли при продолжительном настаивании козьего молока в дубовых кадках на кусочках телячьего или верблюжьего желудка, в результате чего на дне и стенках кадок появлялись желтообразные образования — кефирные зерна, используемые в дальнейшем в качестве закваски. На практике новые грибки получают в результате роста и размножения ранее существовавших, искусственно их воссоздать пока не удалось.

Кефирные зерна представляют собой компактные образования неправильной формы со складчатой или бугристой поверхностью с упругой консистенцией, по форме и цвету напоминающие цветную капусту. Их размер варьируется от нескольких миллиметров до 2–4 см.

В препаратах, приготовленных из расплава кефирного грибка, под световым микроскопом видны скопления разных по форме и величине дрожжевых клеток, мелкие кокки и клубки палочковидных микроорганизмов, в кефирной закваске и кефире наблюдаются только лактококки и дрожжевые клетки (рис. 2.4).

Согласно данным электронной микроскопии микробиота кефирных зерен представлена дрожжевыми клетками лимоннообразной и вытянутой формы, которые находятся в тесном соседстве с кокками и короткими и длинными палочками. Короткие палочки, предположительно *Lactobacillus kefir*, расположены ближе к поверхности грибка, а длинные и изогнутые тонкие палочки, такие как *Lactobacillus kefiranofaciens*, по всему объему грибка и концентрация их увеличивается к центру. Кокки преимущественно располагаются на поверхности дрожжевых клеток, в то время как палочки находятся в пространстве между дрожжевыми клетками. Дрожжи концентрируются как в центре кефирного грибка, так и по поверхности. По-видимому, распределение микроорганизмов на поверхности и внутри зерен зависит от их отношения к кислороду, а также

связано с различиями значений рН. Внутри зерен очень низкое значение рН, которое ингибирует рост лактококков.

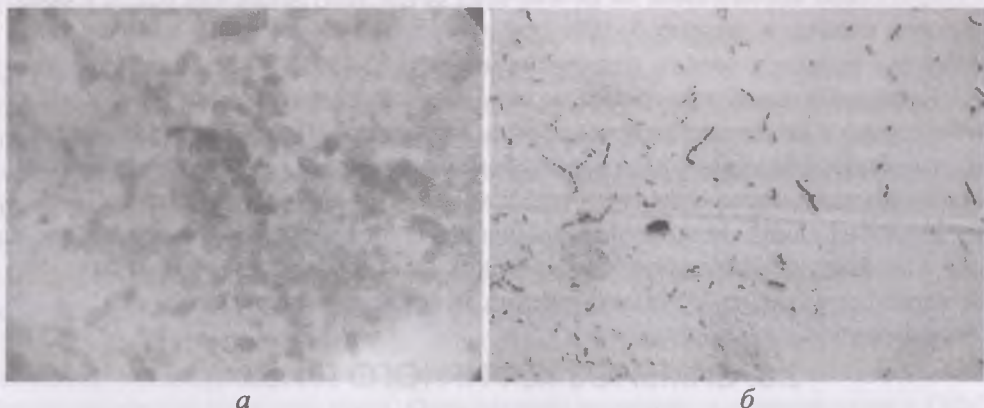


Рис. 2.4

Микропрепараты расплава кефирного грибка (а) и кефирной закваски (б) при увеличении 90×15

В связи со слабой адгезирующей способностью *L. lactis*, при использовании электронной микроскопии некоторые исследователи не обнаруживали присутствие кокков в составе кефирных грибков, несмотря на то, что *L. lactis* определяли как один из доминирующих видов в тех же грибках при использовании других методов.

В качестве доминирующих в составе кефирных грибков большинство исследователей отмечают мезофильные молочнокислые палочки рода *Lactobacillus*, количество которых от общей микрофлоры составляло около 70–90%. Количество мезофильных молочнокислых кокков составляло около 8%, укуснокислых бактерий — 0,05%, дрожжей — 0,5–3%. По другим данным, доля дрожжей в грибке намного больше — 16–70%. Такое расхождение в результатах указывает на вариативность состава грибков, но может быть связано и с применением разных методов выделения чистых культур и их идентификации.

В работе А. А. Хохлачевой «Кефирные грибки как ассоциативная культура микроорганизмов», выполненной под руководством Н. Б. Градовой, показана идентичность состава доминирующих форм молочнокислых бактерий кефирных зерен, используемых на разных молочных предприятиях, при использовании молекулярно-генетических методов. При использовании классических микробиологических методов с выделением чистых культур и их идентификации методом 16S рНК определены доминирующие формы молочнокислых бактерий исследованных кефирных зерен: *L. lactis*, *L. mesenteroides*, *L. plantarum*, *L. sakei*, *Lactobacillus sp.* В работе показана регулирующая роль индуцибельного фермента β-галактозидазы молочнокислых бактерий в обеспечении стабильности микробного сообщества при изменении углеводного пита-

ния и отсутствие различий в микробном профиле и функциональной активности кефирных зерен, культивируемых в течение длительного времени на безлактозном молоке по сравнению с нативным молоком, содержащим лактозу. Выявлена способность разных видов молочнокислых бактерий синтезировать водорастворимые экзополисахариды, по своей структуре аналогичные ЭПС кефирану, но различающиеся по молекулярной массе.

Уксуснокислые бактерии окисляют этиловый спирт в уксусную кислоту. Представители рода *Acetobacter* и вида *Ac. aceti* — мелкие прямые или слегка изогнутые палочки, подвижные, перитрихи, грам (-) или грамвариабельные, неспорообразующие, располагаются по одной, в парах, иногда образуют короткие цепочки, строгие аэробы, мезофилы, любят кислую среду. Широко распространены в природе, на фруктах и овощах, в скисших фруктовых соках, уксусе, алкогольных напитках. В молоке в чистой культуре не развиваются, так как лактозу не усваивают. Формируют специфический вкус и запах кефира, в других продуктах вызывают пороки (ослизнение, привкус уксусной кислоты).

Таким образом, кефирный грибок — симбиотическое образование, в которое входят молочнокислые микроорганизмы, дрожжи, уксуснокислые бактерии. Соотношение видов и штаммов внутри этих групп значительно различается в грибках, использующихся в разных регионах.

Между микроорганизмами, входящими в состав кефирного грибка, могут наблюдаться как симбиотические, так и антагонистические взаимоотношения, которые могут меняться в зависимости от условий культивирования. Антибиотическая активность молочнокислых бактерий связана со способностью синтезировать органические кислоты, антимикробные пептиды — бактериоцины, а также ряд низкомолекулярных соединений. Многие авторы отмечают стимулирующее действие дрожжей по отношению к молочнокислым бактериям.

В симбиозе кефирного грибка важную роль играют дрожжи, поэтому рассмотрим эту группу микроорганизмов более подробно.

## 2.7. ДРОЖЖИ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В МОЛОЧНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Термин «дрожжи» не имеет таксономического значения, он используется для обозначения микроорганизмов, относящихся к царству грибов и имеющих преимущественно одноклеточное строение. Считается, что в процессе эволюции дрожжи утратили способность к образованию длинных нитей-гифов и мицелия, характерных для других грибов (в том числе плесеней), что было связано с переходом к обитанию в жидких и полужидких, богатых органическими веществами субстратах. Однако известны дрожжи, способные формировать ложный мицелий. Даже современные молекулярно-генетические исследования пока не позволили внести ясность в вопрос степени взаимосвязи дрожжей с другими грибами.

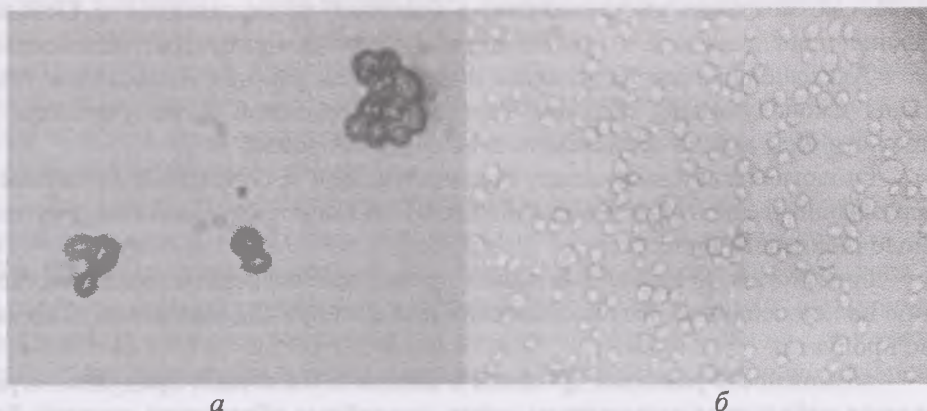
В настоящее время описано около 1500 видов дрожжей, относящихся к аскомицетам и базидиомицетам. К давно и широко применяющимся признакам классификации дрожжей относят фенотипические и биохимические свойства: морфологию клеток, способность к образованию псевдогрибов, способы бесполого и полового размножения, способность к утилизации различных азот- и углеродсодержащих соединений. Недостатками традиционных методов исследований дрожжей являются трудоемкость, длительность, неточность результата. Для точной идентификации могут быть использованы молекулярно-генетические методы. На первом этапе определяют соотношение гуанина и цитозина в ядерной ДНК, которое существенно отличается у аскомицетных (28–50 моль%) и базидиомицетных грибов (50–70 моль%). Наиболее надежным современным методом идентификации дрожжей является определение структуры ядерных и митохондриальных генов (например, 26S и 18S р-ДНК), однако такие исследования можно провести не в каждой лаборатории. В настоящее время разрабатываются более доступные, ускоренные методы, в которые входят диагностические зонды и основанные на чипах системы. Методы, основанные на полимеразной цепной реакции (ПЦР), в том числе снятие «отпечатков пальцев» ПЦР-микросателлитов, AFLP — определение полиморфизма длины амплифицированных фрагментов, RFLP — определение полиморфизма длины фрагментов рестрикции, RAPD — ПЦР полиморфной ДНК, амплифицированной случайным образом, дают возможность дифференциации отдельных штаммов дрожжей и установления источника их попадания.

В то же время микологи отмечают, что таксономия дрожжей пока остается в достаточно неопределенном состоянии и постоянно меняется. Большое количество синонимов, обозначающих один и тот же вид, затрудняет идентификацию видов дрожжей и анализ информации. Так, например, хорошо изученные молочные дрожжи *Kluyveromyces marxianus*, геном которых был впервые секвенирован в 2006 г., в разных источниках могут называться *Saccharomyces lactis*, *Zygosaccharomyces lactis*, *Kluyveromyces lactis* и другими терминами (около 20), а *Candida kefir* — это то же самое, что и *Saccharomyces kefir*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida pseudotropicalis* var. *lactosa*, *Saccharomyces fragrans* и др. В работе, посвященной геносистематике дрожжей рода *Kluyveromyces*, выполненной Н. Н. Сухотиной в ФГУП НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов, было показано, что вид *K. marxianus* не является гомогенным и включает три дивергентные популяции: природные, молочные космополитные и эндемичные дрожжи.

В этой ситуации сохраняет свое значение исследование фенотипических и биохимических признаков дрожжей. Ниже обобщены их наиболее характерные свойства, имеющие значение для молочной отрасли.

Дрожжи, как и все грибы, имеют эукариотическое строение клетки, с четко выделенным ядром, митохондриями, эндоплазматической сетью и комплексом Гольджи и 80S рибосомами, которые можно увидеть под электронным микроскопом. При использовании светового микроскопа и увеличении 90×15 хорошо просматриваются крупные (обычно диаметром 5–10 мкм, но размеры

могут варьировать от 2 до 30 мкм) круглые или овальные неподвижные клетки, имеющие толстую клеточную стенку и неоднородное содержимое (рис. 2.5). Применение специальных методов окраски препаратов позволяет увидеть в клетках гранулы гликогена, включения волютинина и жировых капель. Считается, что дрожжи не образуют капсул, по Граму окрашиваются положительно.



**Рис. 2.5**

Морфология дрожжей *Kluyveromyces marxianus*:

*а* — окрашенный фуксином фиксированный препарат;

*б* — неокрашенный препарат «раздавленная капля».

Основной тип вегетативного размножения дрожжей — почкование (полярное на широком или узком основании, биполярное, мультилатеральное), однако у некоторых видов может наблюдаться равномерное деление. При половом размножении аскомицетные дрожжи образуют аскоспоры разнообразной формы (сферической с ровной и неровной поверхностью), шляповидные, сатурновидные, удлиненные с отростками, игольчатые и др.).

По типу питания дрожжи относятся к хемоорганогетеротрофам, по отношению к кислороду это факультативные анаэробы, причем концентрация кислорода оказывает влияние на тип метаболизма углеводов — окисление или брожение. Оптимальная температура развития дрожжей близка к 25–30°C, однако они могут размножаться и при 5–12°C, т. е. в условиях холодильного хранения, а температурный максимум находится в пределах 60–70°C, что соответствует температуре сгущения в вакуум-выпарных аппаратах и низкотемпературным режимам пастеризации. Дрожжи способны расти в довольно широком диапазоне рН от 3 до 9, при этом предпочитают кислые среды (рН<sub>опт</sub> 4,5–5,5). Дрожжи относятся к осмофильным микроорганизмам, некоторые из них способны выдерживать концентрацию сахаров до 55%, соли — до 8%.

К важным классификационным признакам дрожжей относится их способность окислять и сбраживать различные углеводы, в том числе мальтозу, сахарозу, галактозу, трегалозу и др. Л. С. Залашко исследовала способность к ассимиляции лактозы нескольких десятков штаммов дрожжей разных таксономи-

ческих групп и предложила разделить их по отношению к лактозе на три группы: I — использующие лактозу и способные вызывать ее брожение; II — использующие лактозу путем прямого окисления; III — не использующие лактозу.

Способность дрожжей использовать компоненты молочного сырья обуславливает возможность их применения в молочной промышленности. Основы понимания роли дрожжей в производстве молочных продуктов, заложенные Сергеем Александровичем Королевым и развитые в работах Александры Михайловны Скородумовой, Натальи Сергеевны Королевой и их учеников, в обобщенном виде можно представить следующим образом:

— биологическая связь между молочнокислым и спиртовым брожением так неразрывно тесна, что размножение дрожжей является неизменным спутником молочнокислого процесса;

— присутствие дрожжей оказывает прямое или косвенное биологическое влияние на ход основных технологических процессов, а следовательно, и на качество продукта;

— возможность развития дрожжей в молоке и молочных продуктах ограничивается небольшим количеством видов, способных сбраживать лактозу, более низкими темпами размножения и скоростью использования лактозы по сравнению с молочнокислыми бактериями, а также относительно узким диапазоном оптимальной кислотности;

— дрожжи (и их экстракты) способны стимулировать развитие молочнокислых микроорганизмов в молоке и замедлять их вымирание в условиях длительного хранения и воздействия неблагоприятных факторов, что можно объяснить изменением кислотности, действием ферментов, витаминов, продуктов протеолиза белка;

— продукты метаболизма дрожжей (углекислый газ, спирт, антибиотики) способны подавлять развитие микрофлоры, вызывающей порчу продуктов и алиментарные заболевания (в частности, плесеней, кишечной и туберкулезной палочки);

— дрожжи оказывают влияние на органолептические показатели молочных продуктов; формируют вкус, запах, консистенцию кисломолочных продуктов, обогащают их витаминами, аминокислотами, ферментами.

Наиболее широко дрожжи используются при изготовлении кисломолочных напитков смешанного молочнокислого и спиртового брожения, причем первое место по объемам производства и популярности среди таких продуктов занимает кефир. В соответствии с современными требованиями ГОСТ продукт может называться **кефиром**, если он произведен с использованием закваски, приготовленной на **кефирных грибка**х, без добавления чистых культур молочнокислых микроорганизмов и дрожжей, при этом содержание молочнокислых микроорганизмов в готовом продукте в конце срока годности составляет не менее  $10^7$  КОЕ в 1 г продукта, а дрожжей — не менее  $10^4$  КОЕ в 1 г продукта.

В состав кефирного грибка входят различные виды сбраживающих и не сбраживающих лактозу, спорообразующих и неспорообразующих дрожжей (по

разным данным от 4 до 30 разных видов), среди которых наиболее часто упоминаются *Kluveromyces marxianus*, *Candida kefir*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces unisporus*, *Torulospora delbrueckii*, *Pichia fermentans* и синонимы названий этих видов.

Известны частные случаи применения дрожжей в сыроделии (при изготовлении слизневых сыров используют дрожжи родов *Kluveromyces*, *Debaryomyces*, *Saccharomyces*, *Trichosporon* и другие, которые входят в состав поверхностной слизи и участвуют в созревании) и маслоделии (при производстве кисломолочного масла правильно подобранные виды дрожжей способны предотвращать прогоркание масла и существенно продлевать сроки его хранения в нерегулируемых условиях).

Дрожжи широко используются для биотехнологической переработки сыроворотки. При этом может быть получен целый ряд ценных продуктов (от кваса и БИО-ЗЦМ до спирта и ферментов), технологии и свойства которых достаточно подробно описаны в научной и учебной литературе. К новым, быстро развивающимся за рубежом направлениям можно отнести получение комплексных ферментных препаратов и олигосахаридов, в частности галактоолигосахаридов.

## 2.8. СПЕЦИФИЧЕСКАЯ МИКРОФЛОРА, ИСПОЛЬЗУЕМАЯ В СЫРОДЕЛИИ

Кроме молочнокислых микроорганизмов в некоторых видах сыров используются пропионовокислые бактерии, плесени, дрожжи и бревибактерии.

Пропионовокислые бактерии относятся к семейству *Propionibacteriaceae*, роду *Propionibacterium*. При производстве молочных продуктов применяются виды *P. shermanii*, *P. freudenreichii* — мелкие, неподвижные, не образующие спор и капсул, грам + полиморфные палочки (в молодых культурах — искривленные, слегка ветвящиеся палочки, в более старых — кокковидной формы), факультативные анаэробы, сбраживают углеводы и некоторые спирты в уксусную, пропионовую кислоты и CO<sub>2</sub>, вырабатывают витамин В<sub>12</sub>, участвуют в формировании вкуса и рисунка сыров (крупных глазков). В молоке развиваются медленно, ЭК 5–7 дней, К<sub>п</sub> 160–170°C. Образуют колонии желтого, оранжевого или красного цвета. Пропионовокислые бактерии применяют в производстве твердых сыров типа швейцарского для формирования рисунка (крупных глазков правильной круглой формы), а также вкуса и аромата. Пропионовокислые бактерии могут быть использованы как пробиотики в производстве кисломолочных продуктов благодаря их способности образовывать не только пропионовую кислоту, но и минорные органические кислоты, бактериоцины, ферменты и витамины. Доказано, что эти микроорганизмы обладают иммуномодулирующими и антимуtagenными свойствами.

При производстве некоторых видов мягких сыров используются мицелиальные грибы, относящиеся к пенициллиновым плесеням, классификация которых в настоящее время выглядит следующим образом:

- Царство: Грибы (*Fungi*);
- Отдел: Аскомицеты (*Ascomycota*);
- Класс: Эуроциномицеты (*Eurotiomycetes*);
- Порядок: Эуроциевые (*Eurotiales*);
- Семейство: Трихокомовые (*Trichocomaceae*);
- Род: *Penicillium*.

В сыроделии при производстве некоторых видов (так называемых плесневых и слизневых) сыров применяют следующие виды плесеней:

— *Penicillium camamberti* (синонимы *Penicillium album*, *Penicillium candidum*, в сырах с развитием плесени на поверхности типа камамбер и др.) имеет мицелий белого цвета, ингибирует рост токсинообразующих плесеней;

— *Pen. roqueforti* (в сырах с развитием плесени по всей массе сыра типа рокфор и др., способна расти с *Penicillium candidum* в сырах со смешанной плесенью типа бри) имеет мицелий голубовато-зеленого цвета;

— *Pen. glaucum* (в сырах с развитием плесени по всей массе сыра типа горгонзола) мицелий серо-голубой или зеленоватый.

Плесени обладают высокой протеолитической и липолитической активностью, являются основным фактором формирования органолептических особенностей плесневых сыров.

Слизеобразующая палочка *Brevibacterium linens* участвует в созревании слизневых сыров, она протеолитически и липолитически активна, вырабатывает красный пигмент, грамположительные палочки неправильной формы, мелкие, часто располагаются V-образно, спор не образуют, неподвижные, аэробы; не любят кислую среду, поэтому развиваются после того, как дрожжи и плесени раскислят поверхность сыра; придает сырам характерный запах. Для сыров отбирают штаммы с желто-коричневым пигментом и не очень глубоким протеолизом (без чрезмерного запаха аммиака), разведенную культуру наносят на поверхность сыра. В состав сырной слизи некоторых сыров кроме дрожжей и бревибактерий входят несколько видов пигментообразующих микрококков.

## ВЫВОДЫ

1. Основное отличие молочнокислых микроорганизмов от других групп — способность сбраживать углеводы с образованием молочной кислоты как основного продукта метаболизма.

2. В основе классификации молочнокислых микроорганизмов лежат морфологические признаки (форма и взаимное расположение клеток), тип брожения (гомо- или гетероферментативный) и отношение к температуре.

3. К важным характеристикам молочнокислых микроорганизмов, применяемых в молочной отрасли и влияющим на технологические параметры, относятся оптимальная температура, предельная кислотность, энергия кислотообразования, органолептические свойства сгустка.

4. Молочнокислые кокки, применяемые для производства напитков, сметаны, творога и сыров, относятся к 3 родам — *Lactococcus* (в основном гомо-

ферментативные мезофилы), *Streptococcus* (факультативные гетероферментативные термофилы) и *Leuconostoc* (гетероферментативные мезофилы).

5. Все молочнокислые палочки относят к роду *Lactobacillus*, но делят на три группы — термобактерии (гомоферментативные термофилы), стрептобактерии (факультативные гетероферментативные мезофилы) и бетабактерии (гетероферментативные мезофилы); они применяются при получении кисломолочной продукции и в сыроделии.

6. Пробиотики — живые микроорганизмы, оказывающие благоприятные эффекты на здоровье человека через оптимизацию его микрорэкологического статуса. К пробиотическим микроорганизмам относят представителей защитных групп нормального кишечного микробиоценоза человека и природных симбиотических ассоциаций, преимущественно родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*.

7. Основными механизмами положительного эффекта пробиотиков считают ингибирование роста потенциально вредных микроорганизмов, стимуляцию иммунитета, нейтрализацию токсинов, регуляцию процессов всасывания питательных субстратов, выработку веществ, необходимых макроорганизму (витаминов, летучих жирных кислот, аминокислот и др.).

8. Бифидобактерии являются доминантными представителями нормальной кишечной микрофлоры человека и животных и играют существенную роль в нормализации метаболизма организма-хозяина за счет продукции большого количества различных ферментов и других биологически активных веществ. Свойства бифидобактерий позволили использовать их как основу для создания лечебно-профилактических препаратов и продуктов функционального питания.

9. Симбиоз кефирного грибка включает молочнокислые микроорганизмы (палочки формируют строму, гомо- и гетероферментативные кокки выходят в молоко и являются основной микрофлорой кефира), дрожжи нескольких видов и уксуснокислые бактерии.

10. Дрожжи стимулируют развитие молочнокислых бактерий, формируют вкус, запах, консистенцию кисломолочных продуктов, обогащают их витаминами, аминокислотами, ферментами.

11. При производстве некоторых видов сыров используются пропионово-кислые бактерии, пенициллиновые плесени и бревибактерии.

## ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

### БАЗОВЫЙ УРОВЕНЬ

1. Классификация молочнокислых микроорганизмов.
2. Общие свойства молочнокислых микроорганизмов.
3. Характеристики молочнокислых микроорганизмов, влияющие на технологию.

4. Характеристика молочнокислых кокков. Применение в молочной промышленности.
5. Характеристика молочнокислых палочек. Применение в молочной промышленности.
6. Определение и классификация пробиотиков.
7. Критерии отбора пробиотиков.
8. Механизмы влияния пробиотиков на организм человека.
9. Характеристика бифидобактерий как пробиотических микроорганизмов.
10. Состав микрофлоры кефирного грибка и ее роль в формировании качества кефира.
11. Классификация и свойства дрожжей, применяющихся в молочной промышленности.
12. Классификация и свойства пропионовокислых бактерий и плесеней, применяющихся в сыроделии.

### ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ

1. Какие таксоны выделены жирным шрифтом на схеме рис. 2.1?
2. Почему молочнокислые называются грамположительными бактериями? Какое строение клеточной стенки они имеют?
3. Биохимические основы классификации молочнокислых микроорганизмов.
4. Чем обусловлен разный уровень предельной кислотности у разных групп молочнокислых бактерий? Приведите примеры видов молочнокислых бактерий с минимальной и максимальной предельной кислотностью.
5. Какие требования к пробиотическим микроорганизмам вы считаете наиболее важными для технологии?
6. Особенности культивирования бифидобактерий в молоке.
7. Какие факторы влияют на состав микрофлоры кефирного грибка?
8. С чем связаны проблемы классификации дрожжей и их применения в молочной промышленности?

### РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА И ИНТЕРНЕТ-ИСТОЧНИКИ

1. Банникова, Л. А. Микробиологические основы молочного производства : справочник / Л. А. Банникова, Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. — М. : Агропромиздат, 1987. — 400 с.
2. Ганина, В. И. Техническая микробиология продуктов животного происхождения : учебное пособие / В. И. Ганина, Н. С. Королева, С. А. Фильчакова. — М. : ДеЛи принт, 2008. — 352 с.
3. Гудков, А. В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты / под ред. С. А. Гудкова. — М.: ДеЛи принт, 2003. — 800 с.
4. ГОСТ 10444.11-89. Продукты пищевые. Методы определения молочнокислых микроорганизмов. // <http://www.gostedu.ru/11148.html>.

5. Залашко, М. В. Биотехнология переработки молочной сыворотки. — М. : Агропромиздат, 1990. — 192 с.
6. Залашко, М. В. Микробный синтез на молочной сыворотке / М. В. Залашко, Л. С. Залашко. — Минск : Наука и техника, 1976. — 274 с.
7. Зипаев, Д. В. От чего зависит состав кефирных грибов / Д. В. Зипаев, Е. Ю. Руденко, А. В. Зимичев // Молочная промышленность. — 2008. — № 3. — С. 56–58.
8. Козырева, И. И. Свойства микроорганизмов, выделенных из кефирных грибов / И. И. Козырева, Р. Г. Кабисов, Б. Г. Цугкиев // Молочная промышленность. — 2009. — № 3.
9. Королев, С. А. Основы технической микробиологии молочного дела. — 3-е изд. — М. : Пищевая промышленность, 1974. — 344 с.
10. Королева, Н. С. Техническая микробиология цельномолочных продуктов. — М. : Пищевая промышленность, 1975. — 272 с.
11. Микробиология молока и молочных продуктов : лабораторный практикум / авт.-сост. С. А. Рябцева, Н. М. Панова. — Ставрополь : СКФУ, 2014. — 105 с.
12. Пасечник, А. Н. Использование пробиотиков и пребиотиков при производстве кисломолочных продуктов. — <http://www.scienceforum.ru/2015/959/10454>.
13. Храмцов, А. Г. Применение дрожжей-продуцентов бета-галактозидаз для получения галактоолигосахаридов из лактозосодержащего сырья / А. Г. Храмцов, С. А. Рябцева, А. А. Панфилова [и др.] // Хранение и переработка сельхозсырья. — 2012. — № 8. — С. 36–39.
14. Степаненко, П. П. Микробиология молока и молочных продуктов : учебник. — Сергиев Посад : Все для Вас — Подмоскowie, 2002.
15. Степаненко, П. П. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии молока и молочных продуктов. — Воскресенск : Изд. дом «Лира», 2005.
16. Сухотина, Н. Н. Геносистематика дрожжей рода *Kluyveromyces* : дисс. ... канд. биол. наук. — М., 2007.
17. Хамагаева, И. С. Перспективы практической реализации биотехнологического потенциала пробиотических микроорганизмов // [http://propionix.ru/d/672350/d/perspektivy-prakticheskoy-realizacii-biotehnologicheskogo-potenciala-probioticheskikh-mikroorganizmov\\_1.pdf](http://propionix.ru/d/672350/d/perspektivy-prakticheskoy-realizacii-biotehnologicheskogo-potenciala-probioticheskikh-mikroorganizmov_1.pdf).
18. Хохлачева, А. А. Кефирные грибки как ассоциативная культура микроорганизмов : дисс. ... канд. техн. наук. — М., 2015. — [http://www.bio.msu.ru/res/Dissertation/714/DISSERTATION\\_FILENAME/Khoklacheva\\_disser.pdf](http://www.bio.msu.ru/res/Dissertation/714/DISSERTATION_FILENAME/Khoklacheva_disser.pdf).
19. Храмцов, А. Г. Феномен молочной сыворотки. — СПб. : Профессия, 2011. — 804 с.
20. Шендеров, Б. А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. — Т. 3. Пробиотики и функциональное питание. — М. : Грантъ, 2001. — 288 с.

### 3. ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫЗЫВАЮЩИХ ПОРОКИ МОЛОКА И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

#### 3.1. КЛАССИФИКАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПОРЧИ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ И ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ИХ РАЗВИТИЯ

Метаболизм компонентов молока — естественный природный процесс. Если он выгоден для человека, мы называем его ферментацией, если не желателен — микробной порчей. На скорость и результат этого процесса влияют тип и состав продукта, условия упаковки и хранения, взаимодействие микроорганизмов между собой. Для регулирования микробиологических процессов порчи важно знать свойства и законы поведения микроорганизмов, методы их выявления и количественной оценки.

Молоко является благоприятной питательной средой не только для микрофлоры заквасок, но и для нежелательных микроорганизмов, очень разнообразных по свойствам. Некоторые из них попадают при получении молока на ферме, другие — уже на производстве, приспособившись жить в трубопроводах, на оборудовании, в воздухе и приобретая устойчивость к дезинфицирующим средствам и температуре. Большие возможности для обсеменения и развития посторонней микрофлорой создаются на «грязном» производстве, где не выполняются правила санитарии и гигиены.

Состав нежелательной микрофлоры молока и молочных продуктов представлен психрофильными, мезофильными и термофильными микроорганизмами.

Микроорганизмы, которые могут размножаться при температуре 5°C и ниже независимо от оптимальной температуры для их роста, относятся к психрофильным. Благоприятные условия для их развития создаются при промежуточном хранении сырого и пастеризованного охлажденного молока. При температурах пастеризации психрофилы, как правило, уничтожаются, однако остаточная микрофлора может вырабатывать липолитические и протеолитические ферменты, вызывающие пороки в готовых продуктах.

К мезофильным относятся микроорганизмы, развивающиеся при средних температурах (8–45°C), оптимальной для них является температура 25–39°C. В составе микрофлоры молочных продуктов встречаются мезофилы — плесневые грибы, дрожжи; бактерии — стрептококки, энтерококки, микрококки, споробразующие, уксуснокислые палочки, БГКП и др.

К термофильным микроорганизмам, встречающимся в молоке и вторичном молочном сырье, принадлежат некоторые виды аэробных или факультативно анаэробных споровых палочек и термоустойчивые молочнокислые палочки, которые являются технически вредной микрофлорой, так как вызывают порок перекисания в готовых продуктах.

Наиболее часто встречающиеся возбудители порчи (пороков) молочной продукции по фенотипическим признакам и биохимическим особенностям могут быть разделены на несколько групп:

— микрофлора заквасок, нехарактерная для данного вида продукции (например, молочнокислые микроорганизмы могут вызывать скисание пастеризованного молока или сливок; дрожжи кефирной закваски — вспучивание сметаны или йогурта; даже чрезмерное развитие каких-то видов в закваске может вызывать пороки: нежелательно слишком быстрое развитие уксуснокислых в кефире или микрофлоры сырной слизи в слизневых сырах);

— гнилостные, протеолитические микроорганизмы, способные разлагать белки молока, свертывая их с отделением сыворотки (пептонизируя) или полностью разлагая до растворимых компонентов (протеолиз); на молочном агаре вокруг колоний образуют зоны просветления, разжижают желатин, при разложении белка могут образовывать сероводород, аммиак, индол и другие вещества; могут быть как спорообразующими, так и бесспорными, и по-разному относиться к кислороду;

- маслянокислые бактерии;
- плесени;
- дрожжи;
- термоустойчивые молочнокислые палочки и энтерококки;
- бактериофаги.

Основные группы возбудителей порчи молочных продуктов в соответствии с общепризнанными принципами классификации показаны на рисунке 3.1.



Рис. 3.1

Классификация возбудителей порчи молочных продуктов

Развитие микроорганизмов порчи в молоке и молочных продуктах ограничивают, используя:

- низкотемпературное воздействие;
- высокотемпературную обработку;
- снижение показателя активности воды;
- снижение активной кислотности;
- бактофугирование;
- микрофльтрацию;
- применение химических консервантов;
- применение облучения, озонирования, диоксида углерода или смесей газов при фасовании продукции;
- упаковывание продуктов в различные виды современных упаковочных материалов;
- применение герметичной упаковки и др.

Перечисленные способы не в полной мере позволяют защитить продукцию от возбудителей порчи, которые приводят к ухудшению показателей качества и безопасности, а также уменьшению срока годности молочной продукции. В связи с этим в последние годы к перспективным направлениям относится применение биоконсервантов натурального происхождения, например, низина, который вырабатывается молочнокислыми лактококками, и других бактериоцинов. Так, например, в работе А. В. Молдавановой (руководитель В. И. Ганина) на основе изучения консервирующего эффекта пробиотических бактерий и продуктов их метаболизма в сочетании с природными полимерными материалами разработана биокомпозиция для защиты молочных продуктов от размножения в них возбудителей порчи и кишечных инфекций.

Новый подход к обеспечению качества продуктов связан с разработкой прогностических моделей их порчи, которая основана на предположении, что реакцию популяции тех или иных микроорганизмов на существующие условия окружающей среды можно воспроизвести и спрогнозировать. Для определения срока годности или начала порчи продукта прогностические модели являются альтернативой традиционным длительным испытаниям.

### 3.2. СПОРООБРАЗУЮЩИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ: БАЦИЛЛЫ И КЛОСТРИДИИ

Спорообразующие палочки относятся к домену Бактерии, типу Фирмикуты, и классифицируются в зависимости от отношения к кислороду на аэробные (бациллы, класс *Bacilli*, порядок *Bacillales*, семейство *Bacillaceae*, род *Bacillus*) и анаэробные (кlostридии, класс *Clostridia*, порядок *Clostridiales*, семейство *Clostridiaceae*, род *Clostridium*).

К роду *Bacillus* относятся грамположительные крупные палочки, обычно подвижные, эндоспоры которых чаще всего находятся в центре клетки, аэробы

или факультативные анаэробы, образуют крупные пленчатые колонии на МПА (рис. 3.2).

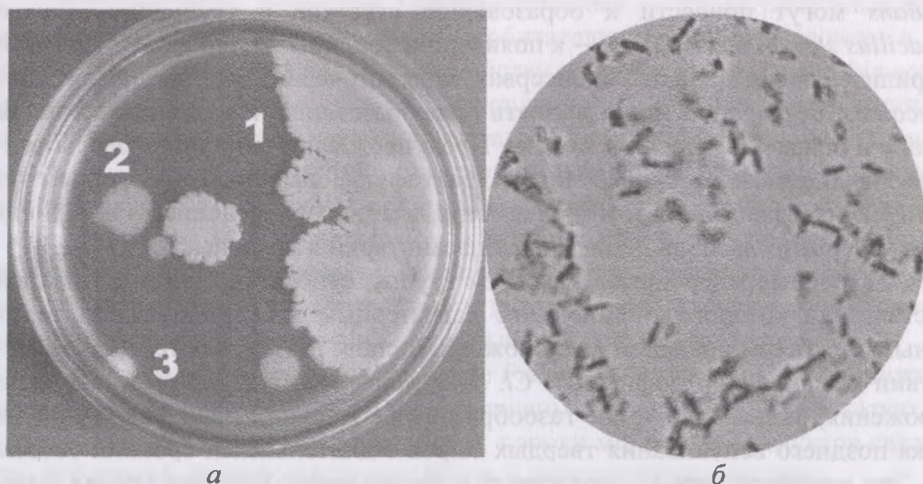


Рис. 3.2

Колонии спорообразующих палочек рода *Bacillus* на питательном агаре (а) и морфология их клеток (б, фиксированный препарат, окраска фуксином, 90×15)

Представители рода *Bacillus* в основном сапрофиты, обладают активными протеолитическими, липолитическими, сахаролитическими свойствами, предпочитают нейтральные и щелочные среды, споры не прорастают в кислых средах. Бациллы широко распространены в природе (в воде, воздухе, на растениях), отсюда попадают в молоко. По данным М. В. Залашко, в пастеризованном молоке наиболее часто встречаются следующие виды аэробных бацилл: *Bacillus butilicus*, *B. calidolactis*, *B. cereus*, *B. circulans*, *B. cereus var. mycoides*, *B. laterosporus*, *B. megatherium*, *B. mesentericus*, *B. polymixa*, *B. pumilis*, *B. patrificans*, *B. subtilis*, *B. thermoliquefaciens*, *B. stearothermophilus*. Традиционные методы определения *Bacillus* основаны на высеве проб продукта или их разведений на среды типа МПА (в стандартных методах — среды для определения КМАФАнМ), термостатировании при оптимальной для развития данной группы бацилл температуре (при определении КМАФАнМ при 30°C в течение 72 ч вырастают колонии мезофильных бацилл) и дальнейшем подсчете (при количественном учете) или исследовании морфологических, биохимических, культуральных свойств и генетических характеристик для идентификации культур.

С появлением новых методов, позволяющих проводить анализ генотипа микроорганизмов, таксономический статус представителей рода *Bacillus* изменился: было введено 8 новых родов, четыре из которых (*Alicyclobacillus*, *Brevibacillus*, *Paenibacillus*, *Geobacillus*) ассоциируются с порчей пищевых продуктов.

Аэробные спорообразующие палочки могут вызывать различные пороки, связанные с разложением белка: горький вкус, пептонизацию, изменение кон-

систенции, посторонние привкусы и запахи (гнили, плесени, прогорклости, фруктов, дрожжей и кислоты). Например, термофильные палочки *Bacillus coagulans* могут привести к образованию сгустков в сгущенном молоке, *Geobacillus stearothermophilus* — к появлению неприятных привкусов и запахов в стерилизованных молочных консервах, психротолерантные *Bacillus circulans*, *B. mycoides*, *B. polymyxa* могут вызвать газообразование, кисло-сладкое створаживание и появление горечи в молоке. Предупреждение этих пороков связано с использованием качественного молока, бактофугированием, соблюдением технологических режимов, в том числе стерилизации, применением бактериоцинов и консервантов, соблюдением правил санитарии и гигиены.

Анаэробные микроорганизмы этой группы относятся к роду *Clostridium*, представители которого — палочки с характерным кластридиальным терминальным и субтерминальным расположением спор, размножаются только в отсутствии кислорода. Мезофильные *Cl. butyricum* — возбудители маслянокислого брожения, вызывают бурное газообразование и неприятный запах (причина порока позднего вспучивания твердых сыров с длительными сроками созревания). Эти микроорганизмы определяют в специальных плотных средах (высокий столбик, сверху — слой парафина для создания анаэробных условий) по образованию газа (разрыву среды), запаху масляной кислоты, наличию в микроскопическом препарате крупных спорных палочек, дающих положительную реакцию на гранулезу (при окрашивании йодом в клетках появляются синие гранулы). Мезофильные гнилостные анаэробы *Cl. sporogenes* вызывают появление гнилостного запаха и бомбаж консервов. Предупреждение пороков сыров основано на исследовании молока на анаэробные спорообразующие микроорганизмы, применении антагонистических заквасок.

### 3.3. БЕССПОРОВЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ: ПСЕВДОМОНАДЫ И ЭНТЕРОБАКТЕРИИ

К роду *Pseudomonas* относятся грамотрицательные аэробные подвижные неспорообразующие палочки с полярным расположением жгутиков, которые образуют флюоресцирующие колонии на плотных питательных средах. По отношению к температуре это психрофилы, обладают протеолитической и липолитической активностью, причем ферменты являются более термостойкими, чем сами микроорганизмы, и остаются в продукте активными после гибели клеток во время тепловой обработки. Псевдомонады, чаще всего виды *Ps. fluorescens* (флюоресцирующая палочка, вырабатывают желтый пигмент) и *Ps. aeruginosa* (синегнойная палочка, сине-зеленый пигмент), вызывают образование слизи в сыром молоке, прогоркание сливок, масла, сыра, порок горького вкуса в сырах и др. Для предупреждения этих пороков кроме переработки качественного молока, соблюдения правил санитарии и гигиены, герметичной упаковки необходимо исключить длительное хранение сырья, полуфабрикатов и готовых продуктов при низких температурах. Для количественного определения псевдомонад и других протеолитических микроорганизмов используют мо-

лочный агар, на котором вокруг колоний этих микроорганизмов образуются зоны просветления в результате разложения белка.

Энтеробактерии семейства *Enterobacteriaceae* — граммотрицательные неспорообразующие палочки, постоянные обитатели кишечника человека и животных, их много в воде и почве. К семейству относится вид *Escherichia coli* — мелкая подвижная палочка, которая может вызывать порок раннего вспучивания сыров. Этот микроорганизм входит в БГКП (бактерии группы кишечных палочек) — основную группу санитарно-показательных микроорганизмов, нормируется во всех молочных продуктах, поэтому превышение норм по БГКП является пороком. БГКП определяют на жидких средах Кесслер (по образованию газа) и Кода (по изменению цвета индикатора), видовую идентификацию проводят путем посева на среде Эндо и дальнейшего исследования типичных колоний (для кишечной палочки — красные с металлическим блеском).

К энтеробактериям относится также *Proteus vulgaris* — очень подвижные, полиморфные палочки, широко распространены в почве, гниющих остатках (их называют «вездесущими мусорщиками»); пороки молочных продуктов связаны с тем, что протеи активно разлагают белок и липолитически активны.

К этому же семейству относится образующая красный пигмент чудесная палочка *Serratia marcescens*. Род серраций образует прямые подвижные (перитрихи) палочки размером 0,9–2,0×0,5–0,8 мкм, отдельные штаммы имеют капсулу. Серрации могут развиваться в молоке и образовывать розово-красный водорастворимый пигмент продигиозин, вызывая пороки цвета.

Основные методы предупреждения пороков, связанных с энтеробактериями, — соблюдение санитарии и гигиены, правил мойки и дезинфекции на предприятии.

### 3.4. ТЕРМОУСТОЙЧИВЫЕ НЕСПОРООБРАЗУЮЩИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ

Термоустойчивость микроорганизмов меняется в зависимости от возраста культуры, состава и свойств среды, в которой происходит нагревание. Так, наличие солей, белков и жиров в среде повышает термоустойчивость, а понижение рН среды и увеличение количества воды в субстрате ее снижает.

Степень термостойкости заметно варьирует не только среди близко родственных видов, но и у различных штаммов в пределах одного вида. Между нестойкими к высокой температуре вегетативными видами и стойкими спорообразующими видами существуют виды бактерий с промежуточной стойкостью. В молочной промышленности термин «термостойкий» относят именно к этой промежуточной группе микроорганизмов, способных выдерживать 76°C в течение 15–20 с.

Виды неспорообразующих микроорганизмов, характерных для пастеризованного молока и переходящих в сыворотку, представлены в таблице 3.1 (по данным М. В. Залашко).

## Представители микрофлоры пастеризованного молока

Род микроорганизмов	Видовые эпитеты
<i>Micrococcus</i>	<i>albus, candidus, cascoliticus, conglomerates, epidermis, flavus, liquefaciens, freidenreichii, luteus, varians, viscosus</i>
<i>Sarcina</i>	<i>lutea</i>
<i>Microbacterium</i>	<i>flavum, lacticum, liquefaciens, mesentericum</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>bovis, durans, faecalis, faecium, glycerinaceus, inulinaceus, lactis, liquefaciens, thermophilus, zymogenes</i>

К значимым представителям термоустойчивой микрофлоры молока и молочных продуктов относятся так называемые термоустойчивые молочнокислые палочки, которые принадлежат к факультативным термофилам, так как диапазоны их роста находятся в пределах 20–65°C, оптимум — 45–55°C. В результате их жизнедеятельности происходит интенсивное кислотообразование, обуславливающее порок перекисания творога, сметаны, обыкновенной простокваши, а также порок консистенции и вкуса — тягучесть и нечистый неприятный вкус.

Термоустойчивые молочнокислые палочки имеют палочковидную форму средних или крупных размеров, располагаются цепочками или одиночно, толщина 0,7–0,9 мкм, часто с выраженными зернами в цитоплазме, грамположительные, спор и капсул не образуют, неподвижны. Они являются факультативными анаэробами, хорошо растут на обезжиренном молоке, а также на агаре с гидролизованным молоком. Глубинные колонии темные, желтовато-бурые, иногда с короткими отходящими нитями. При поверхностном росте колонии более крупные локонообразные или зернистые с темным центром. При внесении культуры петлей в молоко оно свертывается за 8–10 ч, предельная кислотность молока 150–220°Т; сгусток ровный, может быть слизистым и не слизистым. Микроорганизмы могут выдерживать кратковременное нагревание в молоке до 85–90°C, иногда выше, что является одним из наиболее важных отличительных признаков этих микроорганизмов от других видов термофильных молочнокислых палочек. При низких температурах хранения молока они не развиваются. Термоустойчивые молочнокислые палочки растут в среде с содержанием NaCl (до 2–3%) и желчи (до 30–40%). Некоторые штаммы отличаются значительной антибиотической активностью по отношению к БГКП. Термоустойчивая палочка нуждается для своего развития в различных азотистых соединениях и витаминах. Они проявляют меньшую потребность в аминокислотах, так как обладают более сильной способностью к протеолизу, чем другие молочнокислые палочки.

Для обнаружения термоустойчивой палочки молоко прогревают при 92–95°C в течение 10 мин, охлаждают до 42°C и выдерживают в термостате в течение 3 суток, после чего готовят и микроскопируют окрашенные препараты.

Другой вид термоустойчивых микроорганизмов, *Enterococcus faecalis bio-var liquefaciens* (старое название — маммококки), с типичной морфологией грамположительных диплококков, спор и капсул не образуют, факультативные анаэробы; устойчивы к действию температуры (легко выдерживают нагревание до 60°C в течение 30 мин), дезинфицирующих средств, желчи, соли; выделяют фермент типа сычужного, вызывают преждевременное свертывание молока и порок горького вкуса.

Термоустойчивая микрофлора накапливается в пастеризационных установках, на поверхности другого оборудования; особенно опасна, если долго не развивается заквасочная микрофлора. Предупреждение пороков, вызванных этими микроорганизмами, основано на тщательной регулярной мойке оборудования, применении активных заквасок и качественного молока.

### 3.5. ПЛЕСЕНИ И ДРОЖЖИ

Рост микроскопических грибов (дрожжей и плесеней) в молочных продуктах происходит медленнее, чем бактерий, но их способность утилизировать самые разные субстраты и выживать в гораздо более жестких условиях делают их потенциально еще более опасными причинами порчи. С этой точки зрения наиболее важными являются классы зигомицетовых и аскомицетовых грибов в телеоморфной и анаморфной формах. Наиболее важные факторы, влияющие на развитие грибов в продуктах, — состав и концентрация доступных питательных веществ, рН, активность воды и температура, причем важно учитывать взаимодействие между этими факторами.

Развиваясь в молочных продуктах, плесени портят товарный вид продукта. Обладая липолитическими и протеолитическими свойствами, они вызывают гидролиз молочного жира (прогоркание) и разложение белков (гнилостный запах, горький вкус). Плесени для своего роста нуждаются в кислороде, а для споруляции — в газообразной фазе. Споры плесеней в больших количествах находятся в воздухе, почве, на поверхности оборудования, стен, потолков и т. д. Плесени очень устойчивы к низким температурам, многие виды являются психрофилами, некоторые развиваются в холодильниках даже при минусовой температуре. Наиболее часто на молочных продуктах развиваются плесени:

— *Geothrichum lactis* (старое название *Oidium lactis* — молочная плесень);  
— *Penicillium notatum*, *P. commune*, *P. roqueforti*, *P. chysogenum*, *P. expansum*, *P. solitum*;

— *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. fumigates*, *A. nidulans*;

— представители родов *Mucor*, *Alternaria*, *Catenularia*, *Cladosporium*.

Традиционные методы предупреждения пороков, связанных с развитием плесеней, основаны на соблюдении технологических режимов тепловой обработки и хранения полуфабрикатов и продуктов, правил мойки и дезинфекции, контроле и очистке воздуха, добавлении противогрибковых препаратов — сорбата и пропионата, использовании герметичной упаковки. В работе А. В. Молдавановой (руководитель — В. И. Ганина) установлено, что штаммы пробиотических бактерий *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum* и

*Lactobacillus rhamnosus* оказывают ингибирующее действие на плесневые грибы рода *Penicillium*, которые являются наиболее распространенными возбудителями порчи мягких и полутвёрдых сыров. Показано, что разные виды бактерий-пробиотиков отличались по ингибирующему биопотенциалу в отношении изученных видов плесневых грибов (табл. 3.2).

Таблица 3.2

**Антагонистическая активность некоторых пробиотиков по отношению к плесневым грибам рода *Penicillium***

Наименование штамма бактерий	Зона ингибирования роста, мм			
	<i>P. roqueforti</i> 3071	<i>P. expansum</i> 3075	<i>P. aurantiogriseum</i> 3056	<i>P. verrucosum</i> 3076
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ACT-41	11,5±0,2	32,0±0,1	26,0±0,3	15,8±0,2
<i>Lactobacillus fermentum</i> LFM-2	28,5±0,2	24,7±0,1	34,0±0,3	26,8±0,1
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LC-52GV	21,0±0,2	14,0±0,2	18,5±0,2	17,5±0,2
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> BGV-11	0	0	0	0
<i>Lactobacillus plantarum</i> LP-885	13,9±0,3	16,9±0,1	17,3±0,2	14,6±0,2
<i>Bifidobacterium</i> GG-71	0	0	0	0

Самым очевидным признаком дрожжевой порчи пищевых продуктов является вздутие упаковки под действием выделяемого углекислого газа, образующегося в результате медленного сбраживания сахаров. Выделение CO<sub>2</sub> может быть достаточным для деформации и даже взрыва продукта или его упаковки. Эти процессы могут сопровождаться появлением неприятного запаха, посторонних привкусов и мути. В молочных продуктах дрожжи могут вызывать следующие процессы и пороки:

— образуют CO<sub>2</sub>, вызывая порок вспучивания в кисломолочных напитках, твороге, сметане, бомбаж сгущенного молока с сахаром, пороки консистенции и рисунка сыров;

— образуют этиловый спирт и создают условия для развития уксуснокислых бактерий, вызывают пороки «спиртовые вкус и запах», способствуют формированию уксусного привкуса и запаха;

— образуют продукты метаболизма, комплекс которых формирует «дрожжевой привкус» молочных продуктов;

— обладают липолитической и протеолитической активностью, вызывают прогоркание, осаливание, появление неприятного запаха и горького вкуса, слизь на поверхности творога, сметаны, масла, сыров;

— некоторые виды дрожжей (преимущественно рода *Rhodotorula*) могут образовывать красные, розовые, желтые колонии (пятна) на молочных продуктах.

Причиной порчи молочных продуктов обычно становятся представители родов *Saccharomyces*, *Candida*, *Kluyveromyces*, *Geotrichum*, *Torulopsis*, *Rhodotulula*, *Pichia*, *Debaromyces*, *Sporobolomyces*. Следует обратить внимание, что мнение микологов о представителях рода *Geotrichum* (ранее — *Oidium*), к которому относится хорошо известная «молочная плесень» *Geotrichum lactis*, разделилось: одни считают их дрожжами, другие по-прежнему относят к плесеням. Морфология клеток *Geotrichum lactis* показана на рисунке 3.3.

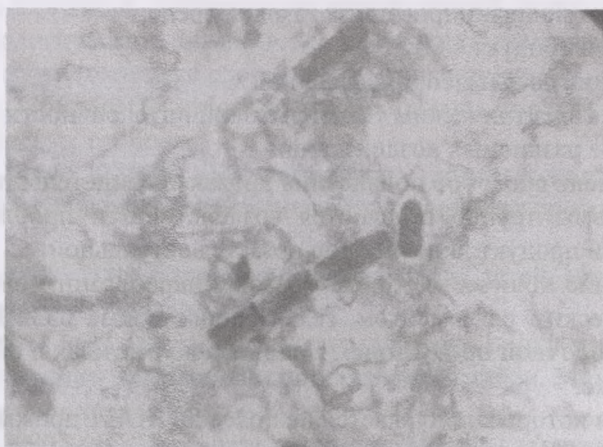


Рис. 3.3

Морфология клеток *Geotrichum lactis* (расплав кефирного грибка, зараженного молочной плесенью, фиксированный препарат, окраска метиленовым синим, увеличение 90×15)

Учитывая то, что таксономия дрожжей постоянно меняется, возбудителей порчи можно условно разделить на «культурные» и «дикие». Источником микроорганизмов первой группы служат закваски, поэтому на предприятиях необходимо предусматривать отделение заквасочных для кефира и других кисломолочных продуктов смешанного брожения от заквасочных для других продуктов, желательно также разделять и участки их производства. «Дикие» дрожжи чаще всего попадают из воздуха и различных наполнителей, особенно фруктово-ягодных и сахара. В связи с этим на предприятиях должен проводиться регулярный контроль микробиологических показателей воздуха и всех применяемых пищевых добавок. К общепринятым в нашей промышленности мерам предупреждения пороков молочных продуктов относятся также: соблюдение правил мойки и дезинфекции; контроль режимов тепловой обработки и температурных режимов хранения продуктов.

Для предупреждения дрожжевой порчи продуктов могут быть использованы и другие меры:

- внедрение систем HACCP, GMP и СІР-мойки;
- использование микрофилтрации;
- применение антибиотиков, например, натамицина из *Streptomyces*;

— внесение фунгицидных средств и консервантов, причем обычно применяющиеся в пищевой промышленности сорбиновая, бензойная, уксусная и пропионовая кислоты часто не предотвращают дрожжевую порчу даже в максимально допустимой концентрации; имеются данные об успешном применении эфирных масел и ванилина;

- термизация готового продукта;
- «ультрачистый» розлив продуктов;
- упаковка в модифицированной газовой среде;
- введение в продукт  $\text{CO}_2$ ;
- применение сверхвысоких давлений;
- обработка электрическим током высокой интенсивности;
- сочетание различных воздействий.

Такой перечень способов подавления дрожжей свидетельствует о том, что эти микроорганизмы трудно поддаются воздействию и проблема борьбы с дрожжевой порчей продуктов до сих пор остается актуальной.

Нормирование количества дрожжей как микроорганизмов порчи предусмотрено Техническим регламентом Таможенного союза 033/213 «О безопасности молока и молочной продукции». Данные о нормативах в обобщенном виде приведены ниже.

Продукты, в которых допускается не более 50 КОЕ/г дрожжей:

- кисломолочные продукты со сроками годности более 72 ч;
- термически обработанные сквашенные продукты;
- творог, творожные продукты со сроками годности менее 72 ч;
- сыворотка молочная, кисломолочные продукты, пахта, ЗЦМ сухие;
- сахар молочный, концентрат лактулозы.

Продукты, в которых допускается не более 100 КОЕ/г дрожжей:

- сметана, продукты на ее основе;
- масса из альбумина, продукты на ее основе;
- творог, творожные продукты с компонентами и сроками годности более 72 ч;
- сыры плавленые с компонентами;
- масло сливочное с компонентами, спреды, топленая смесь.

Продукты, в которых дрожжи и плесени нормируются в сумме (КОЕ/г):

- термически обработанные творожные продукты — не более 50;
- масло сливочное — не более 100;
- закваски жидкие и сухие — не более 5.

Для количественного определения дрожжей в микробиологии традиционно используются следующие методы:

— прямой подсчет клеток под микроскопом в камерах Горяева, причем существуют методы окраски, позволяющие выявлять живые и мертвые клетки; для получения достоверных результатов необходимо просмотреть до 100 полей зрения, что требует длительной и кропотливой работы микробиолога;

— спектрофотометрический метод; основан на измерении оптической плотности (мутности) образца, дает точные результаты только на прозрачных питательных средах;

— метод высева образца или его разведения на плотные питательные среды, с последующим их термостатированием и подсчетом выросших колоний; является основой стандартных методов определения дрожжей (и плесеней).

В производственных лабораториях предприятий молочной промышленности микробиологические анализы для выявления микроорганизмов порчи выполняются в соответствии со следующими стандартами:

— ГОСТ 33566-2015 «Молоко и молочные продукты. Определение дрожжей и плесневых грибов»;

— ГОСТ 10444.12-2013 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов»;

— ГОСТ 30706-2000 «Продукты молочные для детей. Метод определения количества дрожжей и плесневых грибов»;

— ГОСТ ISO 6611-2013 «Молоко и молочные продукты. Подсчет колониеобразующих единиц дрожжей и/или плесневых грибов. Методика определения количества колоний при температуре 25°C»;

— ГОСТ 28805-90 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества осмотолерантных дрожжей и плесневых грибов»;

— с применением пластин PETRIFILM;

— МР «Метод выявления дрожжей и плесневых грибов в пищевых продуктах», 2004 г. (при внутреннем контроле).

Обобщение опыта работы учебных и производственных лабораторий позволяет говорить о следующих проблемах, которые возникают при определении дрожжей по стандартным методикам:

— предусмотрено использование разных видов сред: в основном плотных Сабуро и БФ, допускается также использование жидкой среды — солодового сусли; имеется уточнение, что именно среда БФ предназначена для анализа молочных продуктов, но в лабораториях часто используют среду Сабуро, так как запрета на ее применение нет;

— рост дрожжей существенно зависит от рН среды, в то же время агар Сабуро должен иметь в готовом виде рН  $6,5 \pm 0,1$ ; среда БФ  $4,2 \pm 0,2$ ; солодовое сусли (при большой обсемененности продукта) подкисляют до  $3,6 \pm 0,1$ ; вследствие этого результаты количественного определения дрожжей на разных средах могут значительно отличаться;

— вызывает сложности сам процесс доведения рН сред до нужного значения, так как значение этого показателя нормируется в готовом агаре при 25°C, однако при такой температуре среда уже застывает и точно измерить ее рН практически невозможно; кроме того, после снижения рН среды часто не застывают, что требует дополнительного введения агара;

— результаты зависят от добавления антибиотика, причем в стандарте предлагается использовать один из 13 видов антибиотиков разных групп (стрептомициновые, левомицетиновые, пенициллиновые и др.), действие которых на разные группы микроорганизмов, по-видимому, может отличаться;

— проведение анализа требует много времени, так как термостатирование проводится в течение 3 (предварительная оценка), 5 (окончательная оценка) и даже 7 дней (для осмотолерантных дрожжей);

— согласно ГОСТ, рост дрожжей на агаризованных средах сопровождается образованием крупных, выпуклых, блестящих, серовато-белых колоний с гладкой поверхностью и ровным краем, т. е. дано описание поверхностных колоний, подлежащих подсчету; в то же время при выполнении анализа проводится глубинный посев, и в этом случае дрожжи как факультативные анаэробы могут также давать рост в глубине среды; кроме того, цвет колоний дрожжей может быть розовым, желтым, коричневатым и т. д., а край колоний не всегда бывает ровным;

— не обнаруживаются клетки с сублетальными повреждениями, не растущие на средах, но способные восстанавливаться и вызывать порчу продуктов;

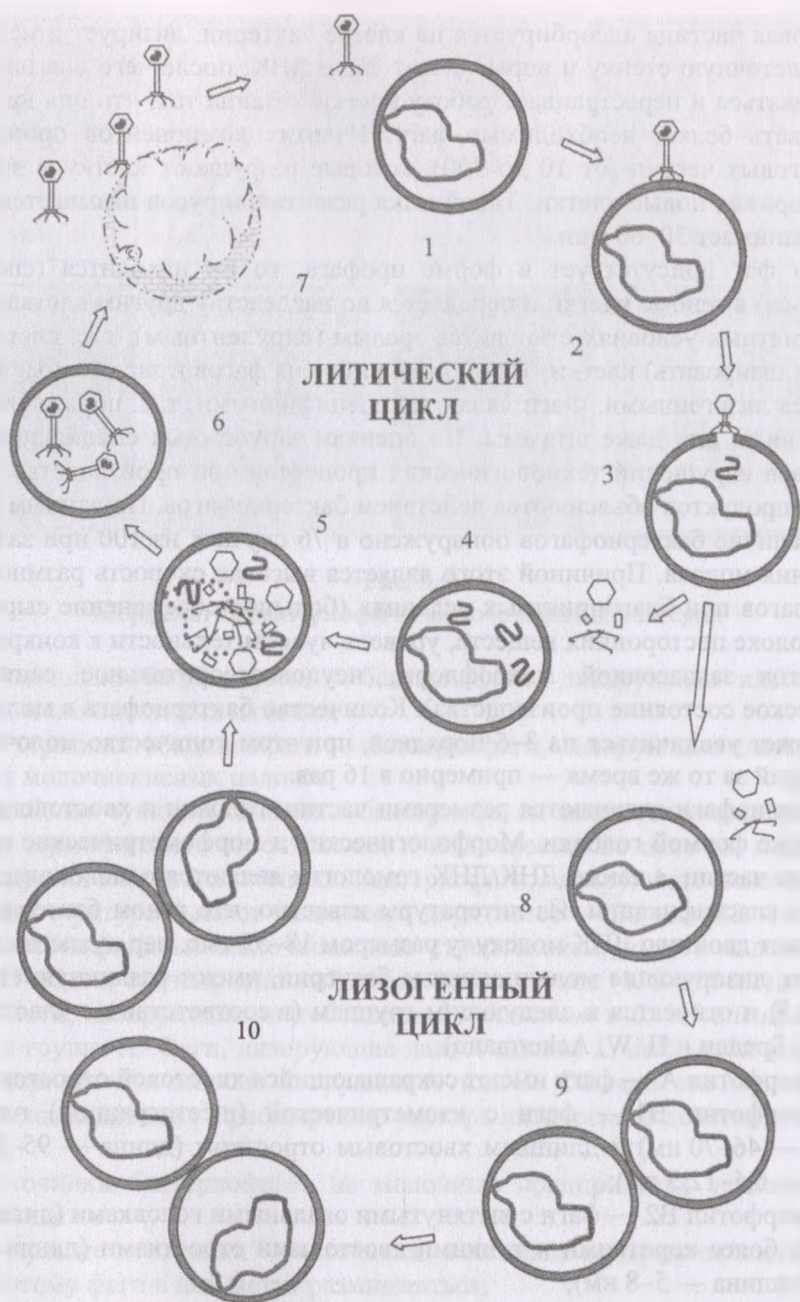
— нет возможности дифференциации видов.

В последние годы стали появляться новые методы количественного определения микроорганизмов, которые позволяют провести анализ быстрее. К ним можно отнести методы, основанные на измерении электропроводности питательной среды или АТФ-биолюминесценции, применении Петри-фильмов, измерении градиента денатурации при гель-электрофорезе (DGGE), проведении ПЦР-анализа фрагментов ДНК в режиме реального времени, однако для большинства предприятий они пока не доступны из-за высокой стоимости. В этом плане представляет интерес применение отечественных микробитестов для определения дрожжей и плесеней. К современным методам исследований в пищевой промышленности также относится провокационное тестирование для определения стабильности свойств и срока годности продукта. Прогностические модели микробиологической порчи пищевых продуктов для дрожжей предусматривают следующие условия: температура 0–22°C; pH 2,6–6,0; концентрация сахара 0–50%; концентрация соли 0,5–10%.

### 3.6. БАКТЕРИОФАГИ

Самая распространенная причина снижения активности микрофлоры заквасок — это воздействие бактериофагов. Поражение молочнокислых бактерий фагами является одной из самых трудноустраняемых причин снижения активности заквасок при производстве ферментированных видов молочной продукции.

Бактериофаги — это вирусы бактерий, вызывающие лизис клеток бактерий. Циклы и этапы развития бактериофага показаны на рисунке 3.4.



**Рис. 3.4**

Циклы и этапы развития бактериофага:

- 1 — бактериальная клетка; 2 — прикрепление фага к клетке; 3 — впрыскивание ДНК фага в клетку; 4 — репликация ДНК фага; 5 — синтез структурных элементов фага; 6 — сборка бактериофагов; 7 — лизис клетки; 8 — встраивание ДНК фага в хромосому клетки; 9, 10 — размножение лизогенных клеток.

Фаговая частица адсорбируется на клетке бактерии, лизирует в месте адсорбции клеточную стенку и впрыскивает свою ДНК, после чего она начинает реплицироваться и перестраивает работу клетки-хозяина так, что она начинает синтезировать белки, необходимые фагу. Из этих компонентов происходит сборка фаговых частиц (от 10 до 300), которые разрушают клетку и выходят наружу, поражая новые клетки. Такой цикл развития вирусов называется литическим и занимает 30–60 мин.

Если фаг присутствует в форме профага, то он находится (способен встраиваться) в геноме клетки и передается по наследству другим клеткам, но в неблагоприятных условиях становится зрелым (вирулентным), т. е. способным поражать (лизировать) клетки. Такой цикл развития фагов и зараженные клетки называются лизогенными. Фаги являются специфичными, т. е. поражают определенные виды или даже штаммы. По оценкам зарубежных специалистов, 5–15% случаев нарушений технологических процессов при производстве кисломолочных продуктов объясняются действием бактериофагов. По данным наших ученых, наличие бактериофагов обнаружено в 76 случаях из 100 при задержке сквашивания молока. Причиной этого является высокая скорость размножения бактериофагов при благоприятных условиях (большое обсеменение сырья, наличие в молоке посторонних веществ, уровень чувствительности к конкретному фагу клеток заквасочной микрофлоры, неудовлетворительное санитарно-гигиеническое состояние производства). Количество бактериофага в молоке через 2 ч может увеличиться на 3–5 порядков, при этом количество молочнокислых бактерий за то же время — примерно в 16 раз.

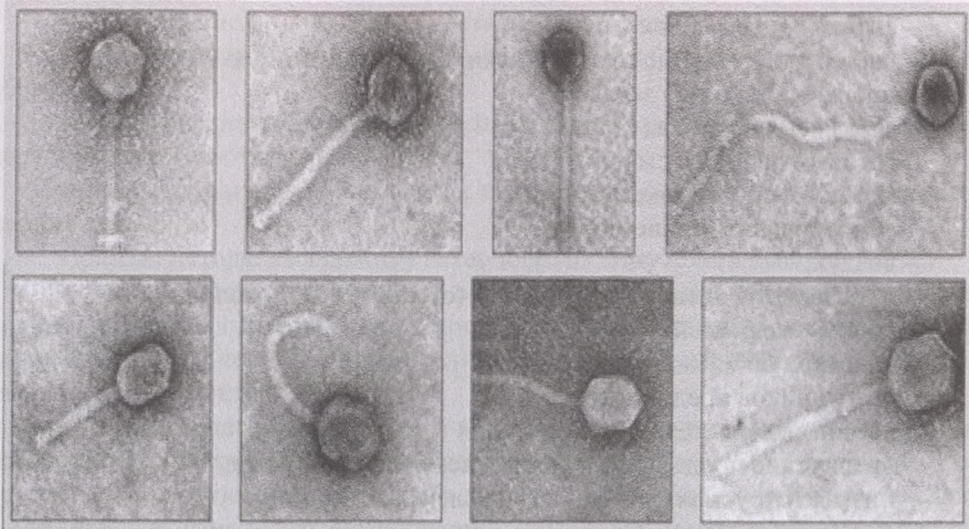
Бактериофаги отличаются размерами частиц, головки и хвостового отростка, а также формой головки. Морфологические и морфометрические признаки фаговых частиц, а также ДНК/ДНК гомология являются основополагающими при их классификации. Из литературы известно, что геном бактериофагов представляет двойную ДНК молекулу размером 18–55 тыс. пар нуклеотидов.

Фаги, лизирующие молочнокислые бактерии, имеют различную структуру (рис. 3.5) и относятся к следующим группам (в соответствии с классификацией Д. Е. Бредли и Н. W. Askermann):

- морфотип А — фаги имеют сокращающийся хвостовой отросток;
- морфотип В1 — фаги с изометрической (шестигранной) головкой (диаметр — 46–70 нм) и длинным хвостовым отростком (длина — 95–270 нм, толщина — 6,5–12,5 нм);
- морфотип В2 — фаги с вытянутыми овальными головками (диаметр — 33–63 нм), более короткими и тонкими хвостовыми отростками (длина — 78–100 нм, толщина — 5–8 нм);
- морфотип С — фаги с изометрической головкой и очень коротким хвостовым отростком.

По литическому действию на молочнокислые бактерии фаги делят на:

- лактококкофаги — бактериофаги, лизирующие клетки лактококков;
- термострептококкофаги — бактериофаги, лизирующие клетки термофильных молочнокислых стрептококков;



**Рис. 3.5**  
Морфология бактериофагов молочнокислых бактерий

— мезолактобациллофаги — бактериофаги, лизирующие клетки мезофильных молочнокислых палочек;

— термолактобациллофаги — бактериофаги, лизирующие клетки термофильных молочнокислых палочек.

Наиболее чувствительными к бактериофагам являются мезофильные лактококки; термофильные стрептококки и молочнокислые палочки подвержены бактериофагии в меньшей степени. Бактериофаги, лизирующие молочнокислые кокки, по структуре бывают чаще всего двух типов — В1 или В2. Фаги, лизирующие термофильные молочнокислые стрептококки, имеют маленькую головку (45–60 нм) и очень длинный хвостовой отросток (130–960 нм) толщиной 8–9 нм. Фаги, лизирующие лактобациллы *L. plantarum* и *L. helveticus*, были отнесены к группе А. Фаги, лизирующие лактобациллы *L. delbrueckii* (*ssp. bulgaricus* и *ssp. lactis*), относят к группам А или С. Обычно это монофаги, но наблюдается тенденция к расширению спектра литического действия, т. е. к полифагии.

Источники бактериофагов на молочных предприятиях условно можно разделить на:

— прямые источники — источники, в которых содержатся клетки бактерий и поэтому фаги в них могут размножаться;

— косвенные источники — источники, в которых фаги содержатся и могут ими переноситься; в косвенных источниках, как правило, фаги не размножаются.

К прямым источникам относят:

— лизогенные культуры, входящие в состав заквасок (неконцентрированные и концентрированные — закваски прямого внесения);

- сырое и сухое молоко, сливки;
- пастеризованное молоко и сливки, нормализованную смесь;
- производственную закваску;
- заквашенную смесь;
- готовый продукт; сыворотку.

К косвенным источникам относят:

- оборудование и инвентарь;
- воздух;
- производственные цеха и участки (стены, полы, потолки и др.);
- соляные бассейны;
- санитарную одежду сотрудников;
- сотрудников предприятий.

Косвенные показатели фаголизиса:

- увеличение продолжительности свертывания молока;
- низкая титруемая кислотность после сквашивания;
- невыраженный вкус закваски или продукта (из-за лизиса гетероферментативных кокков и снижения ароматообразования);
- проблемы текстуры.

Благоприятные условия для размножения фагов: температура 8–36°C, кислая реакция среды, добавление хлорида кальция, разбрызгивание сыворотки, перемешивание; непрерывное ведение технологического процесса. Бактериофаги выдерживают режимы пастеризации, а некоторые — ультрапастеризацию; устойчивы к кислой и щелочной реакции среды в интервале 0,5–12,0 ед. рН; хорошо переносят замораживание и длительное хранение в сухих продуктах. Внесение сычужного фермента, обработка оборудования и воздуха дезинфицирующими веществами, УФ-лучами приводят к снижению количества фагов, но не к полному их уничтожению. При хранении на рассеянном свете при комнатной температуре в прозрачной среде полное отмирание бактериофагов, способных лизировать молочнокислые бактерии, наступает только через 5 дней. В молоке, в силу его непрозрачности, свет не оказывает действия на бактериофаги.

К наиболее эффективно действующим средствам на бактериофаги молочнокислых бактерий относят дезинфицирующие средства, состоящие из пероксида водорода, надуксусной и уксусной кислот.

Полностью исключить контакты заквасочной микрофлоры с бактериофагами в производственных условиях невозможно, так как ферментированные молочные продукты вырабатываются из нестерильного сырья в контакте с нестерильной внешней средой. Следует систематически проводить работу по профилактике поражения микрофлоры заквасок бактериофагами.

Для выявления бактериофагов в различных источниках применяют косвенные и прямые методы.

К косвенным признакам наличия бактериофагов относятся следующие:

- низкая титруемая кислотность в конечный период сквашивания заквасок или продукта;

- увеличение продолжительности свертывания нормализованной смеси;
- невыраженный вкус закваски или продукта (снижение газо- и ароматообразования);

- торможение или отсутствие нарастания кислотности сыворотки при получении и обработке зерна;

- обнаружение агглютинации и измененных форм клеток в микроскопическом препарате.

Прямые методы выявления бактериофагов могут быть выполнены:

- путем посева исследуемого образца в стерильное обезжиренное молоко с метиленовым голубым; если в процессе культивирования после обесцвечивания индикатора через 3–5 ч снова наблюдается посинение молока, это указывает на наличие бактериофага;

- путем нанесения образцов в виде капель на чашку Петри с агаризованной питательной средой (гиролизированное молоко с агаром АГМ, среда М17 или другие), на которую предварительно нанесена чувствительная культура в фазе логарифмического роста с последующим культивированием при оптимальной температуре развития чувствительной культуры. В случае появления прозрачных зон лизиса считают, что в образце бактериофаги присутствуют.

Все новые заквасочные культуры проверяются на фагоустойчивость (посев на АГМ газоном, внесение микрокапель фильтрата с известными бактериофагами, по отсутствию роста колоний устанавливают фагочувствительность). Фагорезистентность бактерий контролируется как основной ДНК, так и плазмидами.

Способы борьбы с бактериофагами:

- асептическое культивирование заквасок;

- использование многовидовых многостаммовых заквасок с постоянной ротацией (заменой);

- применение заквасок прямого внесения;

- создание фагорезистентных культур и заквасок с использованием методов геной инженерии;

- соблюдение правил санитарии и гигиены, особенно мойки и дезинфекции оборудования и воздуха.

Необходимым элементом управления фаговой ситуацией в молочной промышленности является регулярный контроль обсемененности предприятий бактериофагами — фаговый мониторинг. Мониторинг бактериофагов — выявление качественного и количественного состава фагов по ходу технологических процессов и в течение сезонов года. Титр бактериофагов — количество частиц фагов в  $1 \text{ см}^3$  исследуемой пробы.

Фаговый мониторинг осуществляется на нескольких уровнях:

- ежедневный контроль активности производственной закваски;

- ежедневный контроль активности молочнокислого брожения в процессе выработки продукции;

— периодическое определение титра фагов в различных объектах, особенно в закваске, сыворотке, воздухе (по количеству негативных колоний на гонах индикаторных культур).

Особое внимание необходимо уделять соблюдению правил приготовления закваски, ротации культур, мойке и дезинфекции оборудования, чистоте воздуха. К новым направлениям предупреждения бактериофагии можно отнести применение антифаговых питательных сред.

На отечественных молочных предприятиях практически не проводится фаговый мониторинг, который позволял бы систематически устанавливать наиболее опасные критические контрольные точки и вовремя разрабатывать и осуществлять профилактические и корректирующие мероприятия. Это связано с недостаточным количеством и подготовкой кадров микробиологической лаборатории, а также дополнительными материальными затратами, хотя при обострении фаговой ситуации потери на предприятии бывают гораздо большими.

## ВЫВОДЫ

1. Возбудители порчи (пороков) молочной продукции могут быть классифицированы по отношению к температуре, фенотипическим признакам и биохимическим особенностям.

2. Основные методы предупреждения пороков молочных продуктов основаны на использовании качественного сырья, температурном воздействии, снижении активности воды и кислотности продуктов, соблюдении правил мойки и дезинфекции, гигиены и санитарии, микробиологическом контроле.

3. Аэробные спорообразующие палочки рода *Bacillus* вызывают пороки, связанные с разложением белка: горький вкус, пептонизацию, изменение консистенции, посторонние привкусы и запахи. Специальные меры предупреждения этих пороков связаны с бактофуигированием, микрофльтрацией и соблюдением режимов стерилизации.

4. Анаэробные микроорганизмы рода *Clostridium* являются возбудителями маслянокислого брожения и причиной порока позднего вспучивания твердых сыров, предупреждение которого основано на исследовании молока на анаэробные спорообразующие микроорганизмы и применении антагонистических заквасок.

5. Психрофильные псевдомонады вызывают образование слизи в сыром молоке, прогоркание сливок, масла, сыра, порок горького вкуса в сырах и др. Для предупреждения этих пороков необходимо исключить длительное хранение сырья, полуфабрикатов и готовых продуктов при низких температурах.

6. Предупреждение пороков, вызванных термоустойчивой палочкой и энтерококками, основано на тщательной регулярной мойке оборудования, применении активных заквасок и качественного молока.

7. Обладая липолитическими и протеолитическими свойствами, плесени вызывают прогоркание, гнилостный запах, горький вкус молочных продуктов. Специальные методы предупреждения этих пороков основаны на контроле и

очистке воздуха, добавлении противогрибковых препаратов — сорбата и пропионата, использовании герметичной упаковки.

8. Признаками дрожжевой порчи являются вспучивание, появление посторонних привкусов и запахов, цветных пятен на продуктах. Для предупреждения развития дрожжей кроме основных методов может быть использован натамицин, а также термизация и сверхвысокие давления. Существуют определенные проблемы в традиционных методах количественного определения дрожжей.

9. Бактериофаги — это вирусы бактерий, вызывающие лизис клеток заквасочной микрофлоры. Источниками бактериофагов являются сырое и пастеризованное молоко, а также закваски, сыворотка, воздух, вода, оборудование.

10. Косвенными показателями фаголизиса являются увеличение продолжительности свертывания молока, низкая титруемая кислотность после сквашивания, невыраженный вкус закваски или продукта, проблемы текстуры.

11. Способы борьбы с бактериофагами основаны на использовании многовидовых многоштаммовых фагорезистентных заквасок с постоянной ротацией, применении асептического оборудования, соблюдении санитарно-гигиенических условий и своевременном проведении корректирующих мероприятий.

## ЗАДАНИЯ ДЛЯ РАЗБОРА КОНКРЕТНЫХ СИТУАЦИЙ

1. При получении лабораторной закваски для творога после некоторого нарастания кислотности этот процесс прекратился, а затем в колбах появились пузырьки газа. Определите возможные причины и меры предупреждения порока продукта.

2. Сухое молоко имеет неприятный прогорклый запах и горьковатый привкус. Определите возможные причины и меры предупреждения порока продукта.

3. При производстве ряженки после нарастания кислотности до  $30^{\circ}\text{T}$  этот процесс на некоторое время прекратился, после чего кислотность резко возросла до  $140^{\circ}\text{T}$ . Определите возможные причины и меры предупреждения порока ряженки.

4. Из торговли была возвращена партия стаканчиков с творожным кремом со вздувшимися крышками и неприятным запахом. Определите возможные причины и меры предупреждения порока продукта.

5. При получении лабораторной закваски для сметаны после нарастания кислотности до  $30^{\circ}\text{T}$  этот процесс на некоторое время прекратился, после чего кислотность резко возросла до  $130^{\circ}\text{T}$ . Определите возможные причины и меры предупреждения порока сметаны.

6. Из торговли была возвращена партия стаканчиков с биопростоквашей со вздувшимися крышками и неприятным запахом. Определите возможные причины и меры предупреждения порока продукта.

## ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

### БАЗОВЫЙ УРОВЕНЬ

1. Классификация возбудителей порчи по источнику, температуре, фенотипическим признакам и биохимическим особенностям.
2. Основные методы предупреждения пороков молочных продуктов.
3. Пороки молочных продуктов, вызываемые *Bacillus*, и меры борьбы с ними.
4. Пороки молочных продуктов, вызываемые *Clostridium*, и меры борьбы с ними.
5. Пороки молочных продуктов, вызываемые *Proteus*, и меры борьбы с ними.
6. Пороки молочных продуктов, вызываемые *Enterococcus*, и меры борьбы с ними.
7. Пороки молочных продуктов, вызываемые плесенями, и меры борьбы с ними.
8. Пороки молочных продуктов, вызываемые дрожжами, и меры борьбы с ними.
9. Особенности строения и размножения бактериофагов.
10. Источники бактериофагов, косвенные признаки их развития в молочных продуктах.
11. Пороки молочных продуктов, вызываемые бактериофагами, и меры борьбы с ними.
12. Методы определения возбудителей порчи молочных продуктов разных групп.

### ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ

1. На чем основаны современные методы борьбы с возбудителями пороков пищевых продуктов?
2. Что такое прогностическое моделирование порчи пищевых продуктов? Приведите пример такой модели для любого микроорганизма порчи.
3. Составьте схему классификации возбудителей пороков молочных продуктов, используя следующие основные уровни: царство; группа; пример вида; биохимические свойства; основные пороки; меры предупреждения.
4. Назовите проблемы количественного определения и идентификации дрожжей и предложите пути их решения.
5. На чем основана классификация бактериофагов? Какие признаки классификации вирусов не используются и почему?
6. Методы определения бактериофагов.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА И ИНТЕРНЕТ-ИСТОЧНИКИ

1. Банникова, Л. А. Микробиологические основы молочного производства : справочник / Л. А. Банникова, Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. — М. : Агропромиздат, 1987. — 400 с.

2. Волкова, И. Р. Разработка метода индикации бактериофагов, лизирующих молочнокислые бактерии // <http://www.dissercat.com/content/razrabotka-metoda-indikatsii-bakteriofagov-liziruyushchikh-molochnokislye-bakterii>.

3. Ганина, В. И. Техническая микробиология продуктов животного происхождения : учеб. пособие / В. И. Ганина, Н. С. Королева, С. А. Фильчакова. — М. : ДеЛи принт, 2008. — 352 с.

4. Гриневич, А. И. Исследование свойств покоящихся форм микроорганизмов и разработка методики их определения в молочной продукции с длительными сроками годности // <http://www.dslib.net/tehnologia-mjasa/issledovanie-svoystv-pokojawihjsja-form-mikroorganizmov-i-razrabotka-metodiki-ih.html>.

5. Гудков, А. В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты / под ред. С. А. Гудкова. — М. : ДеЛи принт, 2003. — 800 с.

6. Жарикова, Г. Г. Микробиология продовольственных товаров. Санитария и гигиена : учебник. — 3-е изд., стер. — М. : Академия, 2008. — 300 с.

7. Королева, Н. С. Санитарная микробиология молока и молочных продуктов / Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. — М. : Пищевая промышленность, 1980. — 256 с.

8. Микробиология молока и молочных продуктов : лабораторный практикум / авт.-сост. С. А. Рябцева, Н. М. Панова. — Ставрополь : СКФУ, 2014. — 105 с.

9. Блекберн, К. де В. Микробиологическая порча пищевых продуктов ; пер. с англ. — СПб. : Профессия, 2011. — 784 с.

10. Молдаванова, А. В. Разработка антимикробной композиции для защиты поверхности молочных продуктов // <http://www.dissercat.com/content/razrabotka-antimikrobnoi-biokompozitsii-dlya-zashchity-poverkhnosti-molochnykh-produktov>.

11. Джей, Д. М. Современная пищевая микробиология / Д. М. Джей, М. Д. Лесснер, Д. А. Гольден. — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. — 886 с.

12. Степаненко, П. П. Микробиология молока и молочных продуктов : учебник. — Сергиев Посад : Все для Вас — Подмосковь, 2002. — 415 с.

13. Степаненко, П. П. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии молока и молочных продуктов. — Воскресенск : Изд. дом «Лира», 2005. — 654 с.

14. Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013) // <http://docs.cntd.ru/document/499050562>.

15. Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (ТР ТС 021/2011).

## 4. ХАРАКТЕРИСТИКА ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫЗЫВАЮЩИХ АЛИМЕНТАРНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

### 4.1. КЛАССИФИКАЦИЯ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВСТРЕЧАЮЩИХСЯ В МОЛОКЕ И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТАХ. МЕРЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ИХ БЕЗОПАСНОСТИ

Все патогенные микроорганизмы условно делятся на возбудителей пищевых отравлений (ПО) и возбудителей пищевых инфекций (ПИ) (основные группы и примеры возбудителей показаны на рисунке 4.1).

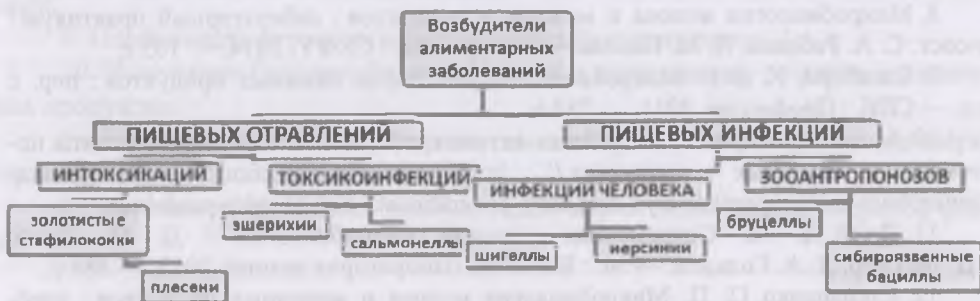


Рис. 4.1

Классификация возбудителей алиментарных заболеваний

Основные отличия этих заболеваний:

- заразность (ПИ заразны, могут вызывать эпидемии, ПО не передаются);
- пути распространения (ПО возникают только при употреблении пищи, ПИ могут распространяться через воду, воздух, контактно-бытовым путем);
- способность возбудителей к размножению в пищевых продуктах (ПО связаны с интенсивным размножением микробов, возбудители ПИ, как правило, в них не размножаются, а сохраняют жизнеспособность и вирулентность);

— концентрация микробов в продукте, при которой возникает заболевание (инфицирующая доза, ПО возникают при значительных концентрациях — десятки и сотни тысяч клеток, ПИ — даже при наличии в продукте десятков или сотен клеток);

— инкубационный период (при ПО короткий, около нескольких часов, при ПИ продолжительный, от нескольких дней до недель).

Пищевые отравления могут быть двух типов: пищевые токсикозы или интоксикации (связаны с употреблением в пищу продуктов, в которых накопились экзотоксины, выделяемые микроорганизмами во внешнюю среду; они всасываются через ЖКТ в кровь и разносятся по всему организму, инкубационный период — несколько часов) и токсикоинфекции (связаны с накоплением большого количества живых патогенных микробов, которые могут размножаться и разрушаться уже в организме человека, при этом высвобождаются эндотоксины и оказывают токсическое действие, инкубационный период больше, до суток и более).

Пищевые отравления сопровождаются рвотой и диареей, могут появляться признаки поражения центральной нервной системы: головные боли, головокружение, быстрая утомляемость и другие; микотоксины обладают гепатотоксическим и канцерогенным действием.

Инфекционные болезни могут быть специфичны только для человека, а могут быть общими для человека и животных — так называемые зооантропозы. Источник инфекции — больные или бактерионосители, обычно это кишечные инфекции. Каждая инфекционная болезнь имеет типичные клинические проявления, однако общими признаками могут являться повышение температуры, боли в животе, диарея, в том числе в тяжелой, геморрагической форме, признаки поражения печени, суставов, центральной нервной системы.

Большинство микроорганизмов пищевого происхождения вызывают локализованную инфекцию и повреждение тканей, но некоторые из них распространяются глубже, вызывая системную инфекцию. Для того, чтобы вызвать заболевание, микроорганизм должен быть способен преодолеть кислую среду желудка, прикрепиться к стенке кишечника и колонизировать ее, выдержав при этом конкуренцию с другой микрофлорой; противостоять защитным механизмам хозяина, вырабатывать токсины или проникать в клетки хозяина. Особую роль при этом играют реакции кворум-сенсинга (взаимодействия между бактериями) и формирование биопленок.

В результате появления и широкого использования молекулярно-генетических и иммунологических методов представления о патогенных микроорганизмах меняются. Анализ данных о строении геномов микробов свидетельствует об относительности их деления на патогенные, условно-патогенные и сапрофитные группы, а также классической классификации патогенных бактерий. Свойства любой группы микроорганизмов никогда не бывают стабильными и изменяются под влиянием разнообразных факторов внешней среды, в том числе антропогенных. Это сопровождается возникновением адаптивных мутаций, некоторые из которых могут быть связаны с появлением или усилением

ем вирулентности (болезнетворности), и в какой-то степени объясняет феномен появления эмерджентных (внезапно возникающих) возбудителей заболеваний среди непатогенных групп микроорганизмов, усиление вирулентности и резистентности известных патогенов, большое число случаев алиментарных заболеваний смешанной и невыясненной этиологии. Следует отметить, что в литературе нет единства мнений о классификации патогенных бактерий, особенно это относится к группам возбудителей токсикоинфекций и инфекционных болезней.

По частоте возникновения и количеству случаев интоксикаций доминируют стафилококковые отравления, инфекционных болезней — сальмонеллезы, шигеллезы и кампилобактериозы. Большинство алиментарных инфекций и токсикоинфекций особенно тяжело протекает на фоне ослабленного иммунитета и сопутствующих заболеваний, они особенно опасны для детей раннего возраста.

В Техническом регламенте Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013) и ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» в сыром молоке нормируются сальмонеллы, в молочных продуктах — сальмонеллы, листерии, золотистый стафилококк, плесени; в продуктах детского питания в показатели безопасности добавлены кишечная палочка, палочка цереус, энтеробактер (*Enterobacter sakazakii*). При производстве молочной и молокосодержащей продукции в ней могут содержаться и выявляться микроорганизмы III и IV групп патогенности. К III группе патогенности относятся: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella ssp.*, *Enterobacter sakazakii*. К IV группе патогенности относятся *E. coli*, *Staphylococcus ssp.*

К основным мерам обеспечения безопасности молочных продуктов на предприятиях отрасли, а следовательно, предупреждения пищевых отравлений и инфекционных заболеваний, относятся следующие:

— использование доброкачественного молока от здоровых животных, соответствие других видов сырья и добавок требованиям стандартов;

— соблюдение технологических режимов тепловой обработки сырья, получения, хранения, транспортировки готовой продукции;

— систематическая борьба с грызунами и насекомыми — переносчиками заболеваний;

— строгое соблюдение правил санитарии и гигиены (особенно личной гигиены работниками предприятий, периодическое медицинское обследование на носительство инфекционных заболеваний и т. п.);

— систематический санитарно-микробиологический контроль сырья, готовой продукции, состояния производства.

## 4.2. ВОЗБУДИТЕЛИ ПИЩЕВЫХ ОТРАВЛЕНИЙ — ТОКСИКОЗОВ

**Стафилококки** были впервые выделены из гноя Пастером в 1880 г. Стафилококки относятся к семейству *Micrococcaceae* (микрококкацеве), роду *Staphylococcus* (стафилококкус), который включает три вида: патогенный —

*Staph. aureus* (золотистый стафилококк); условно-патогенный — *Staph. epidermidis* (эпидермальный); непатогенный — *Staph. saprophyticus* (сапрофитный). Эти виды стафилококков вырабатывают 18 серологических вариантов энтеротоксинов, относящихся к 4 типам — летальный, лизирующий эритроциты, разрушающий лейкоциты, вызывающий омертвление тканей и энтеротоксин, который может выдерживать более жесткие условия тепловой обработки, чем сами клетки, и вызывает пищевые токсикозы. Стафилококки — грамположительные бактерии, имеющие правильную шаровидную форму диаметром 0,6–1 мкм, обычно располагающиеся в виде гроздевидных скоплений, диплококков или одиночных кокков. Стафилококки — аэробы и факультативные анаэробы, неподвижны, спор не образуют; способны к росту в широком диапазоне температур (6,5–45°C) при рН среды 4,2–9,3, в присутствии высоких концентраций соли (до 15%), 40% желчи, сахара (до 40% и более). Они вырабатывают каталазу и сбраживают глюкозу в анаэробных условиях с образованием кислоты.

Наиболее патогенные штаммы встречаются среди представителей коагулазоположительных видов *S. aureus* (золотистого стафилококка), *S. intermedius*, *S. hyicus*. *S. aureus* нормируется стандартами во многих молочных продуктах. Например, *S. aureus* не допускается в твороге в 0,1 г, сметане, ряженке, кефире 1 см<sup>3</sup>. Неблагоприятное воздействие на стафилококки оказывает кислая среда, но при этом токсины, выделенные ранее в продукт, могут сохраняться.

Для диагностики используют среды с высоким содержанием соли (молочно-солевой агар) и яичным желтком (желточно-солевой агар). Стафилококки хорошо растут на питательных средах при рН 7,2±0,2. Оптимальная температура их развития 37°C. На агаризованных питательных средах образуют блестящие, непрозрачные колонии, как правило, пигментированные: белые, кремовые, лимонно-желтые, желто-золотистые, по последнему признаку их часто называют золотистыми стафилококками. Для определения патогенных стафилококков проводится идентификация по ряду тестов, в том числе на коагуляцию плазмы крови (патогенные являются коагулазоположительными). Основной источник — молоко от коров, больных маститом (в сыром молоке проводят пробу на мастит), люди с гнойничковыми заболеваниями кожи и ангиной (к работе на пищевых предприятиях не допускаются).

Стафилококки могут вызывать пороки молочных продуктов, так как они сбраживают лактозу и продуцируют фермент (аналог сычужного). При попадании в молоко могут приводить: к преждевременному свертыванию молока, имеющего горький вкус; загустеванию сгущенного молока. Некоторые виды способны разлагать жир, что приводит к прогорканию продукта.

**Возбудитель ботулизма**, тяжелого пищевого отравления, вызванного содержащимся в пище ботулиническим нейротоксином (самым сильным биологическим ядом — 1 мг можно убить 100 млн мышей) — *Clostridium botulinum*, впервые выделен из колбасы и описан Кернером в 1817 г. По морфологии это палочки с характерным кластридиальным расположением спор, строгие анаэробы, нейтрофилы. Токсин очень устойчив к физическим и химическим воздействиям, разрушается при кипячении в течение 10–15 мин. Споры выдержи-

вают до 6 ч кипячения, но в кислой среде и в присутствии кислорода не прорастают. Могут развиваться в консервированных герметично закупоренных консервах, чаще в овощных, рыбных и мясных. Отравления протекают в очень тяжелой форме с поражением центральной нервной системы.

Источники *Cl. botulinum*: земля, овощи, грибы, консервы. Культивирование проводят на казеиновых или мясных питательных средах с созданием анаэробных условий. На среде Китта — Тароцци наблюдается помутнение, выпадение осадка, запах прогорклого масла. На кровяном агаре вырастают неправильной формы колонии, окруженные зонами гемолиза.

Предупреждение: соблюдение режимов стерилизации, подкисление среды, термообработка — 80°C в течение 30 мин для нейтрализации токсина.

**Возбудители микотоксикозов** — мицелиальные грибы (плесени), выделяющие токсичные вещества, к которым относятся афлатоксины, ократоксины (аспергилловые плесени), исландин, рубротоксин (пенициллиновые плесени), токсичные органические кислоты и др. Содержание афлатоксина М во всех молочных продуктах нормируется стандартами на уровне не более 0,00002 мг/кг, ократоксин А и афлатоксин В нормируются в сухих молочных кашах и продуктах детского питания.

#### 4.3. ВОЗБУДИТЕЛИ ПИЩЕВЫХ ТОКСИКОИНФЕКЦИЙ

Первое место среди возбудителей микробных пищевых отравлений занимают **сальмонеллы**, названные по имени открывшего их в 1884 г. микробиолога Сальмона. Сальмонеллы относятся к роду *Salmonella* семейства кишечных бактерий *Enterobacteriaceae*. В настоящее время классифицировано более 1500 вариантов сальмонелл, отличающихся по антигенной структуре и ферментативной активности, из них примерно 150 типов постоянно обнаруживают в Европе. Сальмонеллезы (так называемые вторичные, первичные инфекционные заболевания (тиф и паратиф), будут рассмотрены далее) протекают в двух формах:

— гастроэнтерологической (боли в животе, тошнота, рвота, понос, температура);

— гриппоподобной (температура, головные боли, боли в конечностях и животе, общее недомогание).

Типовой вид — *Salmonella choleraesuis*, однако для молочной отрасли наибольшее значение имеет *S. enteridis* — возбудитель энтерита. Сальмонеллы — это факультативные анаэробные грамотрицательные, оксидазоотрицательные, каталазоположительные, неспорообразующие палочки с закругленными концами, длиной 2–4 мкм, толщиной 0,5–1 мкм, в основном обладающие жгутиками, а поэтому в большей части подвижны. Они не разжижают желатин, не сбраживают лактозу, сахарозу, не образуют индол, не разлагают мочевины, не образуют ацетилметилкарбинол, образуют сероводород. Сальмонеллы —

хемоорганотрофы, обладают дыхательным и бродильным типами метаболизма. Сальмонеллы обладают высокой устойчивостью к воздействию различных факторов внешней среды, любят слабощелочные среды. В молочных продуктах сальмонеллы не только длительно сохраняются (в масле, твороге до 3–4 мес.), но и размножаются, не изменяя внешнего вида и вкусовых свойств продуктов.

В молочных продуктах патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы, не допускаются в 25 г. Метод выявления бактерий рода *Salmonella* основан на посеве предварительно активизированных в жидких общепотребительных средах микроорганизмов на дифференциально-диагностические среды:

— висмут-сульфитный агар (образуются черные колонии с металлическим блеском);

— среда Плоскирева (бесцветные, прозрачные колонии);

— среда Эндо (желтые колонии) или Левина (прозрачные розоватые колонии), при дальнейшем исследовании типичных колоний на тинкториальные и биохимические свойства.

При росте на плотных питательных средах многие типы сальмонелл (штаммы *S. paratyphi B.*, *S. abortus equi*, *S. choleraesuis* и др.) формируют вокруг колоний четко различимый слизистый вал. Многие типы сальмонелл образуют колонии, напоминающие капельки слизи. Оптимальная температура роста для сальмонелл 37°C, но они могут сохраняться и развиваться в интервале температур от 6 до 46°C; наиболее благоприятная для развития реакция среды — слабощелочная (рН 7,2–7,6).

**Иерсинии** (например, *Iersinia enterocolitica*) как возбудители пищевых токсикоинфекций стали изучаться недавно. Представляют собой овальные или палочковидные клетки, грамтрицательные, спор не образуют, но при 100°C погибают только через 30–40 с; хорошо выдерживают низкую температуру, поэтому их называют «микробы из холодильника». Вызывают иерсиниозы — гастроэнтериты с диареей, лихорадкой и болями в животе. Для идентификации используют метод «холодового обогащения» (выдержка образцов 14 суток при 4°C) и посева на среду Эндо (мелкие, гладкие, прозрачные колонии) с последующим пересевом на МПА или агар Хоттингера (гладкие прозрачные колонии с голубоватым оттенком) и биохимическим исследованием.

**Патогенные штаммы кишечных палочек рода эшерихия вида *E. coli*** делятся на патотипы, среди которых для пищевой отрасли наиболее важными считаются энтеропатогенные, энтероинвазивные, энтеротоксигенные, энтероагрегационные, диффузноадгезивные и энтерогеморрагические. За многочисленные массовые вспышки отравлений из-за потребления зараженной пищи и воды ответственными считаются энтерогеморрагические штаммы O157:H7, которые характеризуются высокой инвазивной способностью и вызывают ряд тяжелых осложнений. Колибактериоз является основной причиной диареи путешественников. Эшерихии — прямые грамтрицательные палочки с закругленными концами (0,6–1×2,0–6,0 мкм), многие имеют капсулу или микрокапсулу, перитрихальные жгутики и пили. Клетки подвижные, факультативные анаэробы. Антигены *E. coli* относятся к трем типам — O, H, K (L, B, A), причем каждый

их них неоднороден: О-антиген имеет более 170 вариантов, К-антиген — более 100, Н-антиген — около 60. Строение О-антигена определяет принадлежность к серогруппе.

Процедура скрининга энтерогеморрагических штаммов кишечной палочки включает 4 этапа:

— обогащение в накопительных средах (например, в модифицированном триптон-соевом бульоне с новобиоцином);

— селективное культивирование на агаровой среде с цефиксимом, теллуридом калия и рамнозой;

— фенотипирование на основе биохимических тестов, серотипирование, детекция токсинообразования;

— генотипирование молекулярно-генетическими методами для подтверждения антигенной структуры и факторов патогенности (адгезия, гемолиз, токсинообразование).

К **условно-патогенным** относят микроорганизмы, которые вызывают заболевания редко, в определенных условиях или только у определенных групп населения. Так, например, спорообразующие палочки *Bacillus cereus*, устойчивые к режимам пастеризации, часто обнаруживаются в сухих молочных продуктах, наиболее опасны для детей, поэтому в продуктах детского питания нормируются; бактерии рода *Proteus* — обитатели кишечника, их много в почве, загрязненных водах, гниющих органических остатках, они любят белковые продукты и могут быстро размножаться в них; типовой вид, который может вызвать токсикоинфекции — *Proteus vulgaris*; условно-патогенные штаммы встречаются и среди *Clostridium perfringens* (клостридии перфрингенс), способных очень быстро размножаться в молоке, образуя сгусток и большое количество пены.

В некоторых источниках литературы сальмонеллы, иерсинии, патогенные кишечные палочки и другие возбудители токсикоинфекций рассматриваются как возбудители инфекционных заболеваний.

#### 4.4. ВОЗБУДИТЕЛИ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЧЕЛОВЕКА

Возбудители **бактериальной дизентерии (шигеллеза)** — представители рода *Shigella*; у нас в стране чаще всего встречаются два вида — *S. sonnei* и *S. flexneri*; короткие палочки, грамтрицательные, факультативные анаэробы, растут при 14–41°C, оптимум 37°C, неподвижные, имеют микроворсинки, которыми прикрепляются к стенкам кишечника, внедряются в них и размножаются, вызывая воспаление слизистой; вырабатывают сложный эндотоксин, инкубационный период от 2 до 7 дней. В пищевых продуктах, в посуде сохраняются до 20 дней; способны размножаться в тепле в сметане, твороге, креме; наиболее частая причина вспышек пищевых инфекций.

**Листерии** (чаще вида *Listeria monocytogenes*) вызывают массовые вспышки листериоза, количество которых растет в разных странах. Листерии

относятся к роду с неясным систематическим положением, которые филогенетически наиболее близки к следующим родам бактерий *Brochothrix*, а также к *Staphylococcus*, *Gemella* и *Kurthica*, т. е. занимают промежуточное положение между бациллами и группой, включающей лактобациллы и стрептококки. В настоящее время считают, что листерии состоят из двух групп близких между собой видов, включающих *L. innocua*, *L. murrayi*, *L. monocytogenes*, *L. ivanovi*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*.

Заболевание листериоз связано с употреблением сыров, сырого и пастеризованного молока, мороженого, йогурта, масла, сухого молока, различных мясных и рыбных продуктов. Заболевание может протекать тяжело, нередко вызывает осложнения и даже смертельный исход.

Листерии — факультативные анаэробные, грамположительные (в более зрелых культурах — часто грамлабильные) полиморфные палочки, иногда почти кокковой формы с закругленными концами, иногда почти кокковой формы, одиночные и в коротких цепочках (0,3–0,5×0,5–2 мкм). Они подвижны при температуре 20–25°C за счет наличия перитрихальных жгутиков, но при температуре 37°C жгутики, как правило, не образуются, и листерии практически неподвижны. Листерии имеют очень широкий температурный спектр развития — 1–44°C, выдерживают высокую концентрацию соли. Листерии не образуют спор и капсул, не кислотоустойчивые, каталазоположительные, оксидазоотрицательные и образуют цитохромы. Они сбраживают глюкозу, галактозу, маннозу, мальтозу, рамнозу, салицин, декстрин, левулезу с образованием кислоты, но без газа.

*L. monocytogenes* нормируется во многих молочных продуктах. Например, в пастеризованном молоке, сливках, сыворотке, пахте *L. monocytogenes* не допускается в 25 см<sup>3</sup>.

**Энтеробактер *Sakazakii*.** Энтеробактер относится к условно-патогенной флоре кишечника человека. Энтеробактер — подвижные бактерии в форме палочек. Типовой вид — *Enterobacter cloacae*. На твердых питательных средах образуют слизистые и неслизистые колонии. Энтеробактеры широко распространены в природе, их выделяют из воды, сточных вод, с растений, из фекалий животных и человека. *Enterobacter sakazakii* вызывает менингиты и абсцессы центральной нервной системы у новорожденных. Все случаи заболеваний связаны с употреблением детских молочных смесей, контаминированных *E. sakazakii*, в том числе при очень низких уровнях возбудителя (1–10 КОЕ/г).

Необходимость контроля сухих молочных смесей для питания детей на наличие *E. sakazakii* обусловлена регистрацией в последние годы документированных спорадических случаев и вспышек септических инфекций и некротизирующего энтероколита у детей первого года жизни, в первую очередь недоношенных, новорожденных с низкой массой тела или иммунокомпромиссных. В первую очередь *E. sakazakii* может попадать в сухие молочные смеси с контаминированными ингредиентами, добавляемыми после сушки, или из окружающей среды в процессе упаковки готового продукта. По ТР ТС 027/2012 *E.*

*sakazakii* должны отсутствовать в 300 г сухой молочной смеси. Контроль молочной продукции проводят по МУК 4.2.2428-08.

Возбудители **брюшного тифа** и паратифов А и В — также представители рода *Salmonella* другого вида *S. typhimurium*; вызывают воспаление кишечника и интоксикацию всего организма.

Возбудители **холеры** *Vibrio cholerae* (холерный вибрион) — подвижные, грамотрицательные, слегка изогнутые короткие палочки, размножаются только в нейтральной или щелочной среде, погибают при 80°C через 4 мин, при кипячении — мгновенно, чувствительны к кислотам, высушиванию, хорошо сохраняются при низких температурах, в пищевых продуктах — до 2 недель, степень тяжести заболевания, протекающего как острая диарея, различна, вплоть до летального исхода.

Через пищу могут передаваться различные вирусные инфекции. К так называемым **энтеровирусам**, поражающим пищеварительный тракт, относятся аденовирусы, астровирусы, саповирусы, норовирусы, вирусы гепатитов А и Е, ротавирусы, вирусы «птичьего» и «свиного» гриппа, а также прионы. Они состоят в основном из одноцепочечной РНК и капсида с кубическим типом симметрии. Возбудитель вирусного гепатита А — РНК-вирус, выдерживает нагревание до 60°C, длительно сохраняется в пищевых продуктах, особенно на холоде, вызывает поражение печени, быстро распространяется.

Для детекции возбудителей вирусных инфекций используют методы прямого выделения и типирования на клеточных культурах, электронная микроскопия, иммуноферментный анализ, методы молекулярной диагностики с применением ПЦР-анализа.

Основной метод предупреждения этой группы заболеваний — соблюдение правил личной гигиены, исключение контакта больных и бактерионосителей с готовыми молочными продуктами.

## 4.5. ВОЗБУДИТЕЛИ ЗООАНТРОПОНОЗОВ

— **Туберкулеза** — *Mycobacterium tuberculosis*. Форма клеток изменчива, аэробы, неподвижны, устойчивы к действию кислот, щелочей, спирта, нагреванию (самый термостойкий из вегетативных в молоке) и высушиванию; долго сохраняется в воде, молоке, замороженном мясе;

— **бруцеллеза** — *Brucella (Brucella melitensis, B. abortus, B. suis)*. Мелкие кокковидные бактерии, неподвижные, грамотрицательные, очень устойчивы к воздействиям, в масле, сырах, замороженном мясе сохраняются в течение нескольких месяцев; тяжелое заболевание, поражающее все органы; молоко от неблагополучных хозяйств кипятят в течение 4 мин;

— **сибирской язвы** — *Bacillus anthracis*. Крупная неподвижная палочка, образующая капсулы и споры, располагающиеся цепочками; в почве сохраняются веками; заболевание может протекать в кожной, легочной или кишечной форме; обладает высокой вирулентностью; подозрительное молоко уничтожается;

— кампилобактериоза — *Campylobacter jejuni*. Неспорообразующие грамотрицательные палочки изогнутой или спиральной формы, с полярным расположением жгутиков, каталазоотрицательные и оксидазоположительные микроаэрофилы, термофилы, способные инфицировать человека и теплокровных животных; заболевание протекает преимущественно по типу энтероколита и гастроэнтерита;

— ящура — *РНК-вирус*. Острозаразен, в масле сохраняется до 24 дней; вызывает изъязвление слизистых поверхностей.

Основной метод предупреждения и распространения этой группы заболеваний — получение молока только от здоровых коров, проверка ветеринарной документации об эпидблагополучии хозяйств при приемке молока на завод.

## ВЫВОДЫ

1. Основными признаками классификации патогенных микроорганизмов, вызывающих алиментарные заболевания, являются способность к инфицированию, пути распространения, инфицирующая доза, инкубационный период.

2. Основные меры предупреждения алиментарных заболеваний связаны с переработкой молока от здоровых животных, соблюдением правил санитарии и гигиены, мойки и дезинфекции, технологических режимов обработки и хранения сырья и продукции.

3. Пищевые отравления могут проявляться в виде интоксикаций, при этом возбудители, как правило, грамположительные бактерии, способны выделять экзотоксины, и токсикоинфекций, которые связаны с накоплением большого количества живых патогенных микробов, образующих эндотоксины.

4. Четкой грани между группами возбудителей токсикоинфекций и инфекционных болезней нет.

5. Инфекционные болезни могут быть специфичны только для человека или общими для человека и животных. Источник инфекции — больные или бактерионосители, обычно это кишечные инфекции. Каждая инфекционная болезнь имеет типичные клинические проявления, однако общими признаками могут являться повышение температуры, боли в животе, диарея, в том числе в тяжелой, геморрагической форме, признаки поражения печени, суставов, центральной нервной системы.

6. Наиболее опасным в молочной отрасли возбудителем интоксикации является золотистый стафилококк, наиболее благоприятная среда для его развития — сметана и сыр. Для предупреждения отравлений стафилококковым токсином в сыром молоке проводят пробу на мастит, люди с гнойничковыми заболеваниями кожи и ангиной к работе на пищевых предприятиях не допускаются.

7. Наиболее распространенные токсикоинфекции вызывают энтеропатогенные сальмонеллы, листерии и иерсинии, инфекционные заболевания — шигеллы.

8. Под влиянием разнообразных факторов внешней среды, в том числе технологических, у бактерий могут возникать адаптивные мутации, связанные с появлением или усилением болезнетворности.

## ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

### БАЗОВЫЙ УРОВЕНЬ

1. Классификация патогенных микроорганизмов.
2. Признаки проявления алиментарных заболеваний разных групп.
3. Меры обеспечения безопасности молочной продукции.
4. Возбудители пищевых отравлений — токсикозов.
5. Возбудители пищевых токсикоинфекций.
6. Возбудители инфекционных болезней человека.
7. Возбудители зооантропонозов.

### ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ

1. Выявите и объясните противоречия между перечнем наиболее часто встречающихся возбудителей заболеваний и нормируемыми стандартными показателями.
2. Какими общими свойствами должны обладать микроорганизмы, чтобы вызвать заболевание?
3. Чем объясняется появление новых патогенов и усиление вирулентности известных?
4. Составьте классификацию патогенных микроорганизмов по схеме: царство (грибы, бактерии, вирусы), группа (у бактерий — грамположительные и грамотрицательные), особенности развития, вызываемые заболевания, специальные методы предупреждения попадания и развития.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА И ИНТЕРНЕТ-ИСТОЧНИКИ

1. Банникова, Л. А. Микробиологические основы молочного производства: справочник / Л. А. Банникова, Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. — М. : Агропромиздат, 1987. — 400 с.
2. Бхуния, А. К. Патогенные микроорганизмы пищевых продуктов ; пер. с англ. — СПб. : ИД «Профессия», 2014. — 344 с.

3. Ганина, В. И. Техническая микробиология продуктов животного происхождения : учеб. пособие / В. И. Ганина, Н. С. Королева, С. А. Фильчакова. — М. : ДеЛи принт, 2008. — 352 с.

4. Ефимочкина, Н. Р. Микробиология пищевых продуктов и современные методы детекции патогенов. — М. : Изд-во РАМН, 2013. — 518 с.

5. Жарикова, Г. Г. Микробиология продовольственных товаров. Санитария и гигиена : учебник. — 3-е изд., стер. — М. : Академия, 2008. — 300 с.

6. Королева, Н. С. Санитарная микробиология молока и молочных продуктов / Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. — М. : Пищевая промышленность, 1980. — 256 с.

7. Микробиология молока и молочных продуктов : лабораторный практикум / авт.-сост. С. А. Рябцева, Н. М. Панова. — Ставрополь : СКФУ, 2014. — 105 с.

8. Мудрецова-Висс, К. А. Микробиология, санитария и гигиена : учебник / К. А. Мудрецова-Висс, В. П. Дедюхина. — М. : ФОРУМ : ИНФРА-М, 2009. — 400 с.

9. Джей, Д. М. Современная пищевая микробиология / Д. М. Джей, М. Д. Лесснер, Д. А. Гольден. — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. — 886 с.

10. Степаненко, П. П. Микробиология молока и молочных продуктов : учебник. — Сергиев Посад : Все для Вас — Подмоскowie, 2002. — 415 с.

11. Степаненко, П. П. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии молока и молочных продуктов. — Воскресенск : Изд. дом «Лира», 2005. — 654 с.

12. Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013) // <http://docs.cntd.ru/document/499050562>.

13. Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (ТР ТС 021/2011).

14. Технический регламент Таможенного союза «О безопасности отдельных видов специализированной пищевой продукции, в том числе диетического лечебного и диетического профилактического питания» (ТР ТС 027/2012).

## 5. ХАРАКТЕРИСТИКА САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

### 5.1. МЕТОДЫ ПРЯМОГО ОБНАРУЖЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПАТОГЕНОВ

При периодическом контроле санитарно-гигиенического состояния предприятий по производству молочных продуктов и при вспышках инфекционных заболеваний используют прямые методы обнаружения патогенных микроорганизмов, анализ проводится в лабораториях государственных органов надзора.

Обнаружение возбудителей заболеваний в пищевых продуктах осложняется контаминацией сопутствующей микрофлорой. На общем микробном фоне количество патогенов может быть незначительным, поэтому их прямое культивирование становится невозможным. Поэтому традиционные методы бактериологического анализа пищевых патогенов предполагают выполнение следующих основных этапов:

- восстановление, накопление клеток в неселективной среде (посев 25 г продукта в 225 мл бульона при определении сальмонелл);
- накопление в жидкой селективной среде с ингибиторами роста сопутствующей микрофлоры;
- пересев на дифференциально-диагностические агаровые среды для выявления специфических колоний;
- исследование культуральных, морфологических и тинкториальных свойств выделенной чистой культуры;
- подтверждение видовой принадлежности культуры с использованием молекулярно-генетических и иммунологических методов.

К широко применяемым молекулярно-генетическим методам относятся гибридизация ДНК, которая основана на взаимодействии комплементарных цепей со специфическими зондами, и полимеразно-цепная реакция (ПЦР), включающая следующие основные этапы:

- подготовка (выбор целевых генов, подбор праймеров);
- обогащение, экстракция, сепарирование образца;
- амплификация (термоциклирование, изотермальное инкубирование);
- анализ продуктов амплификации гель-электрофорезом, мечеными зондами, гибридизацией, секвенированием и т. д.

Среди иммунологических методов чаще всего используется серологическая диагностика и иммуноферментный анализ.

Серологическая диагностика — это изучение взаимодействия антител сыворотки крови и микробных антигенов. Например, для определения листерий применяются реакции непрямой агглютинации эритроцитарным антигенным диагностикумом и реакции связывания комплемента с инактивированным цитоплазматическим антигеном.

Иммуноферментный анализ (ИФА) — определение комплекса антиген — антитело за счет введения ферментативной метки с последующей ее детекцией с помощью субстрата, изменяющего окраску. Например, для определения энтерогеморрагической кишечной палочки, листерий, золотистого стафилококка применяется твердофазная ИФА (сэндвич-метод, при котором антиген заключен между двумя слоями антител).

К современным методам диагностики патогенов относится фаготипирование (лизотипирование, фаготипаж) — метод дифференциации бактерий путем изучения свойств их умеренных фагов и по чувствительности к набору специфических бактериофагов.

## 5.2. ИНДИКАТОРЫ ПАТОГЕНОВ (САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ)

Цель санитарно-микробиологического исследования молока и молочных продуктов — определить наличие или отсутствие опасных для человека микроорганизмов. Проводится по косвенным микробиологическим показателям, позволяющим судить о возможности обсеменения патогенными микробами.

Это связано с тем, что прямое обнаружение возбудителей инфекционных болезней имеет ряд трудностей. В больших количествах они высеваются во время эпидемий, очень трудно определяются в другое время (их меньше, чем непатогенных, и они подавляются другими). Для выращивания патогенных микроорганизмов нужны специальные среды и условия (это дорого, необходима гарантия полной безопасности, а следовательно, полная стерильность). Поэтому санитарную оценку безопасности обычно проводят не прямым, а косвенным путем, с помощью индикаторов патогенов. При этом устанавливают факт загрязнения продукта микроорганизмами, содержащимися в кишечных (фекальных) выделениях. Чем обильнее это загрязнение, тем вероятнее попадание патогенных микроорганизмов. Это показатель санитарного неблагополучия, потенциальной опасности исследуемых объектов, поэтому они названы **санитарно-показательными микроорганизмами (СПМ)**.

Согласно представлениям, сложившимся в санитарной микробиологии, индикаторы патогенов (санитарно-показательные микроорганизмы) должны отвечать следующим критериям:

— индикатор должен быть непатогенным, достаточно просто обнаруживаться и дифференцироваться, чтобы его можно было определять в производственных лабораториях;

— индикатор должен иметь кишечное происхождение и иметь тот же резервуар, что и патогенные бактерии;

— индикатор должен быть похож по скорости роста и условиям размножения в пищевых продуктах на кишечные патогены; сохранять жизнеспособность в окружающей среде в течение сроков, близких к срокам выживания патогенных микробов, выводимых из организма теми же путями;

— степень устойчивости к естественным или искусственным воздействиям должна быть не ниже, чем у соответствующих патогенных;

— постоянство свойств, т. е. они не должны изменяться под воздействием факторов внешней среды; отсутствие зависимости от наличия других микроорганизмов в питательной среде;

— равномерное распределение в исследуемых объектах.

Приведенному перечню требований не отвечает ни одна группа санитарно-показательных микроорганизмов, речь идет лишь о большем или меньшем соответствии критериям отбора.

В настоящее время в качестве СПМ чаще всего используют БГКП, *E. coli*, бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, к условным показателям санитарно-гигиенического благополучия производства можно отнести также дрожжи, плесени, КМАФАнМ, а в некоторых случаях также энтерококки, стафилококки, клостридии перфрингенс, кишечные бактериофаги, бактерии рода протеус и др.

Основные меры предупреждения развития СПМ связаны с неукоснительным соблюдением санитарии и гигиены на предприятиях отрасли, в том числе правил личной гигиены, мойки и дезинфекции оборудования, пола, стен, инвентаря, тары и т. д.

### 5.3. БАКТЕРИИ ГРУППЫ КИШЕЧНЫХ ПАЛОЧЕК (БГКП) КАК ОСНОВНЫЕ САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ

В группу БГКП входят представители нескольких родов семейства *Enterobacteriaceae*, в том числе *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*. Эти микроорганизмы обладают многими общими морфологическими, культуральными и биохимическими свойствами.

Бактерии группы кишечных палочек — короткие (длина 1–3 мкм, ширина 0,5–0,8 мкм) полиморфные подвижные и неподвижные грамтрицательные палочки, не образующие спор. Бактерии этой группы хорошо растут на простых питательных средах: мясопептонном бульоне (МПБ), мясопептонном агаре (МПА). На МПБ дают обильный рост при значительном помутнении среды; осадок небольшой, сероватого цвета, легкоразбивающийся. Образуют пристеночное кольцо, пленка на поверхности бульона обычно отсутствует. На МПА колонии прозрачные с серовато-голубым отливом, легко сливающиеся между собой. На среде Эндо образуют плоские красные колонии средней величины. Красные колонии могут быть с темным металлическим блеском (*E. coli*) или без блеска (*E. aerogenes*). Для лактозоотрицательных вариантов кишечной палочки (*B. paracoli*) характерны бесцветные колонии. Им свойственна широкая приспособительная изменчивость, в результате которой возникают разнообразные варианты, что усложняет их классификацию.

Большинство бактерий группы кишечных палочек (БГКП) не разжижают желатина, свертывают молоко, расщепляют пептоны с образованием аминов, аммиака, сероводорода, обладают высокой ферментативной активностью в отношении лактозы, глюкозы и других сахаров, а также спиртов. Не обладают оксидазной активностью. По способности расщеплять лактозу при температуре 37°C БГКП делят на лактозоотрицательные и лактозоположительные кишечные палочки (ЛКП), или колиформные, которые нормируются по международным стандартам. Из группы ЛКП выделяются фекальные кишечные палочки (ФКП), способные ферментировать лактозу при температуре 44,5°C. К ним относится *E. coli*, не растущая на цитратной среде.

В соответствии с ГОСТ 32901-2014 «Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа» бактерии группы кишечных палочек (БГКП, коли-формы) — это микроорганизмы семейства энтеробактерий родов эшерихия, цитробактер, энтеробактер, клебсиела, серратия; бесспорные, грамотрицательные, аэробные и факультативно-анаэробные палочки, сбраживающие лактозу с образованием кислоты и газа.

На этих свойствах основано определение БГКП в молочных продуктах в средах Кесслер (в соответствии с 32901-2014 по образованию газа) или Кода (по изменению цвета индикатора) после термостатирования при температуре 37±1°C в течение 24 ч, а для мороженого — 48 ч. Дифференциально-диагностическая — среда Эндо, на которой *E. coli* образует красные колонии с металлическим блеском. Образование полупрозрачных бесцветных или бледно-розовых колоний говорит о принадлежности микроорганизмов к лактозоотрицательным, в том числе патогенным энтеробактериям.

Санитарно-показательное значение родов неодинаково: наличие эшерихий свидетельствуют о свежем фекальном загрязнении, цитробактер и энтеробактер (иногда их считают измененными эшерихиями под влиянием пребывания во внешней среде) — показатели давнего или нефекального загрязнения.

В молоке БГКП хорошо размножаются, доводя его кислотность до 50—80°Т и образуя в нем неровный ноздреватый сгусток. Молочнокислые микроорганизмы замедляют развитие БГКП. При режимах пастеризации, принятых в молочной промышленности, БГКП гибнут. Обычные дезинфицирующие средства полностью обеззараживают оборудование, инвентарь, руки от БГКП.

Дифференциацию БГКП можно проводить с помощью специальных тестов (комплекс признаков ТИМАЦ + Л):

— Т — температурный тест (тест Эйкмана, выявляет способность эшерихий ферментировать глюкозу, лактозу, маннит с образованием газа при 44—45°C, другие не обладают такой способностью);

— И — индолообразование (способность эшерихий расщеплять аминокислоту триптофан с выделением индола);

— М — реакция с метиловым красным, заключается в определении кислотообразования при ферментации глюкозы: если индикатор изменяет светложелтый цвет на красный, это свидетельствует о снижении рН до 5 и о наличии эшерихий и цитробактер, энтеробактер не изменяет цвет индикатора;

— А — реакция на ацетилметилкарбинол (ацетоин), выявляет способность микроорганизмов образовывать это вещество в среде с глюкозой; проводится качественная реакция с гидроксидом калия и креатином, дающая розовый цвет, такой способностью обладают только представители рода цитробактер;

— Ц — цитратный тест (способность микроорганизмов усваивать в качестве единственного источника углерода лимонную кислоту или ее соли, используют среду Козера с цитратами, цитробактер и энтеробактер растут на таких средах, называются цитратположительными бактериями, эшерихии — нет);

— Л — лактозный тест (способность ферментировать лактозу).

Основные (наиболее стабильные) тесты — температурный и цитратный. При воздействии факторов внешней среды (например, в присутствии антибиотиков) свойства БГКП могут меняться. Для дифференциации видов дополнительно определяют уреазную активность, рост на средах с цианистым калием, ферментацию различных углеводов, используют специальные таблицы.

Критерии санитарной оценки молочных продуктов и других объектов по присутствию СПМ предусмотрены действующими ГОСТ и СанПиН. Используемый ранее показатель бродильного титра заменен показателем отсутствия БГКП в определенной массе продукта. Так, например, в пастеризованном молоке БГКП должны отсутствовать в  $0,01 \text{ см}^3$ , в ультрапастеризованном молоке — в  $10 \text{ см}^3$ , ряженке — в 1 г, в кефирной закваске — в 3 мл, в твороге — в 0,001 г.

#### 5.4. ОБЩАЯ БАКТЕРИАЛЬНАЯ ОБСЕМЕНЕННОСТЬ (КМАФАНМ) И ДРУГИЕ СПМ

КМАФАНМ — показатель общей бактериальной обсемененности (количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов), измеряется в КОЕ (колониеобразующих единицах) в 1 г (для твердых продуктов) или в  $1 \text{ см}^3$  образца (если продукт жидкий). Если КМАФАНМ превышает нормы, это свидетельствует о недостаточной эффективности обработки сырья, низкой санитарно-гигиенической культуре производства, плохих условиях хранения, о возможности развития пороков и о вероятности наличия патогенных. Определение КМАФАНМ основано на подсчете количества колоний, выросших на стандартной плотной питательной среде из  $1 \text{ см}^3$  или 1 г продукта при культивировании при  $30^\circ\text{C}$  в течение 72 ч (при исследовании воды при  $37^\circ\text{C}$  в течение 24–48 ч, показатель называется «общее микробное число»). Полученная величина КМАФАНМ намного меньше, чем реальная обсемененность продукта, кроме того, это количественная, а не качественная оценка, однако метод является наиболее доступным и широко применяется. КМАФАНМ контролируется по ГОСТ 32901-2014 во всех продуктах, в производстве которых не используются бактериальные закваски:

- молоко и сливки пастеризованные;
- молоко и сливки сгущенные с сахаром, какао, кофе со сгущенным молоком и сахаром;
- молочные сухие консервы, кроме сухих кисломолочных продуктов;
- сыры плавленые;
- мороженое;
- стерилизованное молоко и сливки, а также сгущенные стерилизованные молоко и сливки контролируют на промышленную стерильность.

При необходимости выявления возбудителей пороков молочной продукции в соответствии с ГОСТ 32901-2014 рекомендуют также определять:

— КТАФАНМ — количество термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, вырастающих и образующих видимые колонии на питательном агаре при температуре 44°C и/или

— КПАФАНМ — количество психротрофных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, вырастающих и образующих видимые колонии на питательном агаре при температуре 7°C.

Рассмотрим краткую характеристику других микроорганизмов, которые также могут быть использованы в качестве санитарно-показательных, причем многие из них являются условно-патогенными.

**Энтерококки.** Наряду с БГКП являются постоянными обитателями кишечника человека и животных. Преимущества этой группы по сравнению с БГКП — большая устойчивость к физическим и химическим воздействиям, меньше подвержены изменчивости. Целесообразно использовать для контроля безопасности продуктов, длительно хранящихся при низких температурах (БГКП при этом погибают). В международных стандартах по исследованию воды наличие энтерококков используют как дополнительный показатель качества воды. Диагностика: молочная среда с полимиксином.

**Сульфитредуцирующие клостридии** — спорообразующие палочки, по соотношению вегетативных и спорных форм можно судить о свежести фекального загрязнения (споры сохраняются во внешней среде, палочки погибают). Нормируются в казеинатах (в 1 г не более 200 клеток) и в питьевой воде (не должны обнаруживаться в 20 см<sup>3</sup>). Диагностика: железо-сульфитная среда.

**Бактерии рода *Proteus*** — показатели гнилостных процессов разложения белка, используются при санитарной оценке изделий из творога, например, запеканок и пудингов. Диагностика: высокобелковые среды.

**Стафилококки** используются как СПМ при оценке воздуха, так как способны вызывать воспалительные заболевания, но при контроле молочных продуктов имеет значение их способность образовывать энтеротоксины и вызывать интоксикацию.

**Кишечные бактериофаги** — один из показателей фекального загрязнения, так как бактериофаги обладают строгой специфичностью. Методика обнаружения более сложная, определяется в БОЕ (бляшкообразующих единицах) по количеству зон лизиса, образующихся на колониях кишечной палочки. Этот показатель стал определяться только в последние годы при оценке загрязнения

воды патогенными энтеробактериями. Значение этого показателя возрастает при массовых вспышках вирусных инфекционных заболеваний, например, гепатита.

## ВЫВОДЫ

1. При периодическом контроле санитарно-гигиенического состояния предприятий по производству молочных продуктов и при вспышках инфекционных заболеваний, который проводится в лабораториях государственных органов надзора, используют прямые методы обнаружения патогенных микроорганизмов.

2. Методы определения патогенных микроорганизмов включают этапы обогащения проб на общих и селективных жидких средах, посев на плотные среды и исследование бактерий типичных колоний на комплекс фенотипических и генотипических характеристик.

3. Так как прямое обнаружение возбудителей инфекционных болезней имеет ряд трудностей, оценка безопасности молочных продуктов в производственных лабораториях проводится по косвенным микробиологическим показателям — индикаторам патогенов (санитарно-показательным микроорганизмам).

4. Индикатор должен быть непатогенным, но похожим по скорости роста и условиям размножения в пищевых продуктах на кишечные патогены.

5. Бактерии группы кишечных палочек (БГКП, коли-формы), основная группа санитарно-показательных микроорганизмов — это микроорганизмы семейства энтеробактерий родов эшерихия, цитробактер, энтеробактер, клебсиелла, серратия, имеющие общие свойства: бесспоровые, грамтрицательные, аэробные и факультативно-анаэробные палочки, сбраживающие лактозу с образованием кислоты и газа.

6. К показателям эффективности обработки сырья, санитарно-гигиенической культуры производства, условий хранения, возможности развития пороков и вероятности наличия патогенных кроме БГКП относятся КМАФАнМ, КТАФАнМ, КПАФАнМ, количество энтерококков, сульфитредуцирующих клостридий, протеев, стафилококков и кишечных бактериофагов.

## ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

### БАЗОВЫЙ УРОВЕНЬ

1. В каких случаях молочные продукты будут анализироваться на наличие патогенных микробов?
2. Основные этапы определения патогенных микроорганизмов.
3. Для чего введено понятие «индикаторы патогенов»?
4. Критерии отбора санитарно-показательных микроорганизмов.

5. Основные меры предупреждения развития санитарно-показательных микроорганизмов.

6. Общие морфологические и биохимические свойства бактерий группы кишечных палочек.

7. Нормирование и определение БГКП.

8. Как расшифровывается, измеряется и определяется показатель КМАФАнМ? КПАФАнМ? КТАФАнМ?

9. Какие группы микроорганизмов могут также использоваться в качестве санитарно-показательных?

## ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ

1. Современные молекулярно-генетические и иммунологические методы детекции патогенов.

2. Каким критериям отбора индикаторов патогенов соответствуют БГКП, а каким — нет?

3. Какое санитарное значение имеют представители разных родов бактерий группы кишечных палочек?

4. На чем основаны составы питательных сред и режимы определения БГКП?

5. Достоинства и недостатки показателя КМАФАнМ как показателя общей обсемененности молочных продуктов.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА И ИНТЕРНЕТ-ИСТОЧНИКИ

1. Банникова, Л. А. Микробиологические основы молочного производства : справочник / Л. А. Банникова, Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. — М. : Агропромиздат, 1987. — 400 с.

2. Бхуния, А. К. Патогенные микроорганизмы пищевых продуктов ; пер. с англ. — СПб. : ИД «Профессия», 2014. — 344 с.

3. Ганина, В. И. Техническая микробиология продуктов животного происхождения : учеб. пособие / В. И. Ганина, Н. С. Королева, С. А. Фильчакова. — М. : ДеЛи принт, 2008. — 352 с.

4. Ефимочкина, Н. Р. Микробиология пищевых продуктов и современные методы детекции патогенов. — М. : Изд-во РАМН, 2013. — 518 с.

5. Жарикова, Г. Г. Микробиология продовольственных товаров. Санитария и гигиена : учебник. — 3-е изд., стер. — М. : Академия, 2008. — 300 с.

6. Королева, Н. С. Санитарная микробиология молока и молочных продуктов / Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. — М. : Пищевая промышленность, 1980. — 256 с.

7. Микробиология молока и молочных продуктов : лабораторный практикум / авт.-сост. С. А. Рябцева, Н. М. Панова. — Ставрополь : СКФУ, 2014. — 105 с.

8. Мудрецова-Висс, К. А. Микробиология, санитария и гигиена : учебник / К. А. Мудрецова-Висс, В. П. Дедюхина. — М. : ФОРУМ : ИНФРА-М, 2009. — 400 с.

9. Джей, Д. М. Современная пищевая микробиология / Д. М. Джей, М. Д. Лесснер, Д. А. Гольден. — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. — 886 с.
10. Степаненко, П. П. Микробиология молока и молочных продуктов : учебник. — Сергиев Посад : Все для Вас — Подмоскowie, 2002. — 415 с.
11. Степаненко, П. П. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии молока и молочных продуктов. — Воскресенск : Изд. дом «Лира», 2005. — 654 с.
12. Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013) // <http://docs.cntd.ru/document/499050562>.

## 6. МИКРОБИОЛОГИЯ СЫРОГО И ПИТЬЕВОГО МОЛОКА

### 6.1. ИСТОЧНИКИ ПЕРВИЧНОГО ОБСЕМЕНЕНИЯ МОЛОКА И МЕРЫ ЕГО ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

В сыром молоке присутствуют микроорганизмы разных таксономических групп: дрожжи, плесени, вирусы (бактериофаги, инактивирующие полезную заквасочную микрофлору) и бактерии. Общее содержание бактерий в молоке обусловлено рядом факторов, к главным из которых относят: санитарно-гигиенические условия получения и хранения молока, температуру хранения и транспортирования молока.

Источники обсеменения молока делят на эндогенные (внутренние) и экзогенные (внешние).

**Эндогенные источники обсеменения:** микрофлора молочной железы, микроорганизмы-комменсалы (энтерококки, микрококки, иногда маститные стрептококки, коринебактерии и др.). Эндогенное обсеменение молока вымени может происходить также при маститах, септических инфекционных болезнях, травмах и воспалительных процессах соскового канала и вымени.

Молоко свежесвыдоенное никогда не бывает стерильным, оно содержит от нескольких сотен до тысяч бактерий в  $1 \text{ см}^3$ . Эти микроорганизмы попадают в молоко непосредственно из соскового канала молочной железы — это нормальная бактериальная флора молока, которая представлена микроорганизмами-эпифитами, обитающими на растениях. Они не опасны для здоровья человека. Однако большое количество этих микроорганизмов в молоке приведет к его быстрой порче, поэтому рекомендуется проводить сдаивание первых струек молока в отдельную посуду. При этом удаляются микробные пробки соскового канала и уменьшается микробное обсеменение молока.

*Основные представители нормальной микрофлоры сырого молока:* сапрофитные микроорганизмы, относящиеся к молочнокислым бактериям и кокам: молочнокислый стрептококк (*Lactococcus lactis*), сливочный стрептококк (*Lactococcus cremoris*), термофильный стрептококк (*Streptococcus thermophilus*). Комменсалами вымени могут быть молочнокислые палочки рода *Lactobacterium* — *Lactobacterium plantarum* (представитель эпифитной микрофлоры растений).

В выводных протоках вымени могут обитать: *Ent. liquefaciens* (энтерококк), представители семейства *Micrococcaceae*, представители бактерий рода *Corynebacterium*. Названные микроорганизмы могут постоянно встречаться в сыром молоке, поэтому их считают представителями нормальной микрофлоры молока.

Обсеменение сырого молока под действием эндогенных факторов еще называют секреторным обсеменением молока.

**Экзогенные источники обсеменения:** кожа животного, подстилочные материалы, корма, воздух, вода, доильная аппаратура и посуда, кожа и одежда работников молочной фермы. Обсеменение сырого молока под действием экзогенных факторов называют постсекреторным обсеменением молока.

*Кожа животного*, особенно вымени. Молочная пленка, образующаяся в процессе доения между кожей сосков и доильными стаканами, наличие на коже грубых и мелких складок создают благоприятные условия для развития микрофлоры. Для предупреждения загрязнения молока необходима мойка и дезинфекция вымени перед дойкой. На 1 см<sup>2</sup> поверхности вымени должно быть менее 10<sup>3</sup> микроорганизмов.

*Подстилочные материалы.* Подстилочные материалы из соломы и сена являются источником загрязнения кожного покрова животного, а затем и молока кишечными палочками, маслянокислыми бактериями, энтерококками, гнилостными спорообразующими дрожжами, плесенями, молочнокислыми бактериями и др. Нельзя использовать в качестве подстилки торфяную крошку.

*Корма.* В свежескошенной траве больше молочнокислых бактерий, в грубых кормах — гнилостных спорообразующих аэробных бацилл. В кормах содержатся также пропионовокислые, уксуснокислые бактерии, актиномицеты, дрожжи и др. Кормление коров прокисшим или смешанным с землей кормом, плохим силосом или кислой бардой в сочетании с имеющимися недостатками в гигиене содержания животных ведет к загрязнению молока маслянокислыми и другими бактериями, поэтому корма должны быть качественными.

*Воздух.* Качественный состав микрофлоры воздуха представлен чаще всего микрококками, сарцинами, клетками дрожжей и спорами плесеней. Необходимо исключить запыление воздуха сухими кормами.

*Вода*, отвечающая требованиям ГОСТ на питьевую воду и применяемая для мытья молочной посуды и аппаратуры, содержит незначительное количество микроорганизмов. Вода открытых водоемов или загрязненная вода содержит флюоресцирующие палочки, кокковую микрофлору, кишечные палочки, гнилостные бактерии и др. С целью предупреждения загрязнения молока посторонней микрофлорой вода должна соответствовать нормам питьевой воды.

*Доильные установки, резервуары для хранения* являются основным источником заражения молока психротрофными бактериями, преимущественно псевдомонадами. Психрофильные микробы размножаются в молочно-водной среде на плохо вымытых и дезинфицированных установках, находясь в активной фазе размножения. В плохо вымытой и непросушенной аппаратуре размножаются также молочнокислые бактерии, кишечные палочки, микрококки, гнилостные микроорганизмы и др. Меры предупреждения загрязнения молока — мойка и дезинфекция установок и резервуаров.

*Кожа и одежда работников фермы* могут стать источником обсеменения молока возбудителями различных заболеваний: кишечными палочками, стафилококками, стрептококками и др. Работники ферм, соприкасающиеся с молоком, должны соблюдать правила санитарии и гигиены.

Чем выше бактериальная обсемененность сырого молока, тем большая вероятность присутствия в нем патогенных и других микроорганизмов, которые могут привести к выработке нестандартных молочных продуктов.

## 6.2. ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОФЛОРЫ СЫРОГО МОЛОКА ПРИ ХРАНЕНИИ (СМЕНА ФАЗ)

Во время хранения молока изменяется как количество микроорганизмов, так и соотношение между отдельными видами бактерий. Характер этих изменений зависит от степени исходного обсеменения и состава микрофлоры, а также от температуры и продолжительности хранения молока. Развитие микрофлоры можно разделить на несколько этапов (фаз).

**Фаза I — бактерицидная**, в течение которой микроорганизмы не развиваются и даже частично погибают из-за наличия естественных защитных факторов. Антимикробные свойства молока обуславливаются наличием антител (антитоксинов, агглютининов, бактериолизинов и др.), лейкоцитов, иммуноглобулинов, лизоцима, ферментов (пероксидазы) и др.

Продолжительность фазы зависит от температуры хранения (при 30°C — 3 ч, при 25°C — 6 ч, при 10°C — 24 ч), степени обсеменения, состава микрофлоры.

**Фаза II — смешанной микрофлоры**, в течение которой происходит быстрое, ничем не сдерживаемое размножение разных микроорганизмов, количество которых увеличивается от нескольких тысяч до сотен млн клеток в течение 12–48 ч. Это связано с благоприятными условиями для их развития — нет продуктов метаболизма. Переход к этой фазе постепенный: различные микроорганизмы не одновременно преодолевают бактерицидное воздействие молока. Состав микрофлоры зависит от температуры хранения:

— при температуре 0–10°C медленно развиваются психрофилы, которые могут выделять протеолитические и липолитические ферменты;

— при температуре 10–35°C мезофилы, в том числе молочнокислые, гнилостные бактерии, БГКП и др., что особенно важно при созревании сырого молока в сыроделии.

**Фаза III — молочнокислых бактерий.** Фаза начинается с момента заметного нарастания кислотности и преобладания молочнокислых бактерий (кислотность около 60°Т). Сначала преобладают молочнокислые стрептококки (до 120°Т). Их максимальное количество (до 2 млрд клеток в 1 см<sup>3</sup>) наблюдается через 1–2 суток, затем происходит их массовое отмирание. Молочнокислые палочки, как более кислотоустойчивые, продолжают развиваться. Через 7 суток в молоке остаются только палочки, которые отмирают при достижении кислотности 250–300°Т.

Продолжительность молочнокислой фазы может длиться несколько недель. В течение этой фазы происходит самоочищение молока. Это объясняется

наличием молочной кислоты, которая подавляет развитие других микроорганизмов. Сначала погибают флюоресцирующие бактерии, как наиболее чувствительные к повышению кислотности, затем гнилостные и микрококки. Дольше всех в таком молоке остаются разившиеся представители рода *Escherichia*, в связи с их высокой устойчивостью к повышенной кислой реакции среды.

**Фаза IV — развития дрожжей, плесеней и гнилостной микрофлоры**, которая была в молоке и не погибла в кислой среде или попала из воздуха. На поверхности молочного сгустка начинают постепенно развиваться плесени (*Geotrichum lactis*), затем размножаются дрожжи (*Candida mycoderma*) и возникает брожение. *Geotrichum lactis* и *Candida mycoderma* участвуют в образовании белой пушистой пленки. Позже появляются плесени родов *Penicillium* и *Aspergillus*. Затем в раскисленной среде прорастают спорообразующие палочки и развиваются другие гнилостные микроорганизмы, происходит пептонизация и глубокий распад белков, разложение всех органических компонентов.

### 6.3. ПОРОКИ СЫРОГО МОЛОКА И МЕРЫ ИХ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

В сыром молоке возможно возникновение пороков бактериального происхождения, связанных с изменением:

— **консистенции** (ослизнение и тягучесть вызваны бесспоровой палочкой *B. lactis viscosum*, слизиобразующими штаммами лактококков или ацидофильной палочкой; сладкое свертывание, без повышения кислотности — энтерококки *Ent. liquifaciens*, образующие фермент типа сычужного; брожение — БГКП, дрожжи);

— **вкуса и запаха** (горький вкус — энтерококки *Ent. liquifaciens*, прогорклый — флюоресцирующая палочка, щелочной вкус — гнилостные неспорообразующие палочки, навозный, сырный, тухлый и другие запахи — БГКП, флюоресцирующая палочка, гнилостные бактерии);

— **цвета** (синий — синегнойная палочка *Pseudomonas aeruginosa*, красный — чудесная палочка *Serratia marcescens*, желтый — флюоресцирующая палочка *Ps. fluorescens*).

Появления пороков этой группы можно избежать при строгом соблюдении санитарно-гигиенических условий получения молока, при правильном и хорошо организованном его сборе, транспортировке и хранении, а также при своевременной его первичной обработке.

### 6.4. ТРЕБОВАНИЯ К МОЛОКУ-СЫРЬЮ ПРИ ПРИЕМКЕ

1 мая 2014 г. вступил в силу Технический регламент Таможенного союза 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции» (далее ТР ТС), который распространяется на входной контроль молока сырого и выходной кон-

троль продуктов переработки молока. ТР ТС не допускает использовать в пищу молоко, полученное в течение первых семи дней после дня отела животных и в течение пяти дней до дня их запуска (перед их отелом) и/или от больных животных и находящихся на карантине.

Требования, предъявляемые к сырому молоку, сформулированы и в ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции». В соответствии с этими требованиями к обращению допускаются сырое молоко, полученное от здоровых животных из хозяйств, свободных от заразных болезней животных, в том числе: ящура, чумы, лейкоза, бруцеллеза, туберкулеза, оспы, контагиозной плевропневмонии.

В таблице 6.1 приведены показатели и значения норм безопасности молока сырого по требованиям ТР ТС, стандарта ЕС и межгосударственного стандарта ГОСТ 31449-2013 «Молоко коровье сырое».

Таблица 6.1

**Показатели норм безопасности молока сырого**

Показатель	Нормы безопасности молока сырого		
	ТР ТС	Стандарта ЕС	ГОСТ 31449-2013
Здоровье животных	Должны соответствовать требованиям законодательства о ветеринарии		
Содержание соматических клеток, в 1 см <sup>3</sup> , не более	500–700	400	400
Патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы	Отсутствуют в 25 г	–	Отсутствуют в 25 г
КМАФАнМ*, КОЕ**/см <sup>3</sup> , не более	5·10 <sup>5</sup>	1·10 <sup>5</sup>	1·10 <sup>5</sup>
Класс по редуцтанной пробе	–	–	–
Ингибирующие вещества	–	–	Отсутствуют
Антибиотики, афлатоксин М, токсичные элементы, радионуклиды	Не должны превышать установленных норм		

*Примечание.*

\* Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

\*\* Колониеобразующие единицы.

Основной особенностью ТР ТС является отказ от определения требований к молоку различных сортов и установление границ безопасности по основным показателям, превышение которых не допускает возможность приемки и переработки молока.

Основные показатели идентификации и качества молока сырого, регламентируемые ТР ТС в сравнении с ранее действующим Федеральным законом № 88-ФЗ «Технический регламент на молоко и молочную продукцию» (далее ТР № 88-ФЗ), приведены в таблице 6.2.

## Показатели идентификации и качества молока сырого

Критерий	Регламентируемые значения	
	№ 88 ФЗ	ТР ТС
Консистенция	Однородная жидкость без осадка и хлопьев. Замораживание не допускается	
Вкус и запах	Чистый, без посторонних запахов и привкусов, не свойственных свежему натуральному молоку	
Цвет	От белого до светло-кремового	
Кислотность, °Т	16–21	
Плотность, кг/м <sup>3</sup> , не менее	1027	
Точка замерзания, °С, не выше	–0,520	–0,505
Массовая доля сухих обезжиренных веществ молока (СОМО), %	8,2	
Массовая доля жира, %	3,4 (высший сорт)	Не менее 2,8
Массовая доля белка, %	3,0 (высший сорт)	Не менее 2,8

Молоко сырое необходимо обязательно проверять на наличие ингибирующих веществ (ГОСТ 23454 «Методы определения ингибирующих веществ»). К ингибиторам относятся антибиотики, сульфаниламиды, нитраты, консервирующие (формалин, перекись водорода), нейтрализующие (сода, гидроксид натрия, аммиак), моющие и дезинфицирующие средства и др.

Антибиотики, попадающие в молоко, при тепловой обработке практически не разрушаются и нарушают проведение производственного процесса, ингибируя заквасочную микрофлору. Например, пенициллин при пастеризации разрушается только на 8%. Присутствие в молоке антибиотиков приводит к тому, что заквасочная микрофлора развивается плохо; кислотообразование и ароматообразование подавляется или полностью прекращается; активизируется развитие посторонней микрофлоры. Установлено, что при содержании в молоке пенициллина в количестве более 0,018 МЕ/мл происходит развитие более устойчивых к антибиотикам БГКП.

Присутствие моющих веществ в молоке при концентрации от 0,025 г/л и выше приводит к подавлению заквасочной микрофлоры. Формалин (40%-ный раствор формальдегида) присоединяется к аминок группам белков и вызывает их денатурацию.

Механизм бактерицидного действия химических ингибирующих веществ заключается в том, что в результате взаимодействия химических реагентов с веществами цитоплазмы в ней происходят необратимые изменения, нарушающие нормальное течение процессов жизнедеятельности клетки и приводящие к ее гибели.

Соли тяжелых металлов вызывают коагуляцию белков клетки. Кроме того, положительно заряженные ионы металлов адсорбируются на отрицательно

заряженной поверхности бактерий и изменяют проницаемость их цитоплазматической мембраны. При этом нарушаются процессы питания и размножения микроорганизмов.

При производстве молочных и молокосодержащих продуктов используются функционально необходимые ингредиенты (ферментные препараты, закваски, соли-плавители, структурообразователи, соль, сахар и т. д.); пищевые добавки (загустители, стабилизаторы, консерванты и т. д.) и разнообразные немолочные компоненты (немолочные жиры, немолочные белки, мясные продукты, фрукты, овощи, специи, зелень, орехи и др.). Все виды используемых компонентов должны соответствовать требованиям нормативных и/или технических документов на данные продукты, в том числе ТР ТС 029/2012 «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств».

Периодичность контроля показателей качества и безопасности молока при приемке устанавливают в соответствии с таблицей 6.3.

Таблица 6.3

**Периодичность контроля показателей качества  
и безопасности молока сырого**

Наименование показателя	Рекомендуемая периодичность контроля	
	нормальный контроль	усиленный контроль*
Соматические клетки, в 1 см <sup>3</sup>	Не реже одного раза в 10 дней	В каждой партии
КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup>	Не реже одного раза в 10 дней**	***
Класс по редуцтазной пробе	В каждой партии	В каждой партии
Антибиотики и ингибирующие вещества	Не реже одного раза в 10 дней	В каждой партии

*Примечание.*

\* Усиленный контроль показателей безопасности проводят в случае обнаружения существенного превышения показателей (соматические клетки, уровень бактериальной обсемененности) относительно допустимых норм или подтвержденное наличие ингибирующих веществ. Цель усиленного контроля — выявление причин, приводящих к нарушению норм безопасности, и их устранение.

\*\* При проведении ежедневного контроля уровня бактериальной обсемененности по редуцтазной пробе контроль КМАФАнМ проводят или в случае расхождения в оценке результатов, или в случае, если бактериальная обсемененность составляет менее  $3 \cdot 10^5$  КОЕ/г, т. е. когда редуцтазная проба не чувствительна.

\*\*\* Усиленный контроль бактериальной обсемененности проводят при появлении органолептических пороков готового продукта, связанных с обсеменением молока-сырья определенными группами микроорганизмов.

Общие и специфические требования к молоку-сырью для сыроделия, включая не только коровье, но козье и овечье молоко, регламентированы ТУ 9811-153-04610209. В молоке-сырье, используемом для производства сыра,

необходимо контролировать специфические критерии его сыропригодности (табл. 6.4).

Общие требования к сливкам-сырью для производства молочных продуктов регламентированы ГОСТ Р 53435-2009 и ТУ 9811-152-04610209 (для сыров). В таблице 6.5 представлены общие микробиологические критерии безопасности и качества сливок-сырья, подлежащие контролю в условиях производственной лаборатории.

Таблица 6.4

**Специфические критерии сыропригодности молока-сырья**

Критерий сыропригодности	Нормируемые значения	Рекомендуемая периодичность контроля	
		при нормальном контроле	при усиленном контроле*
Содержание спор лактат-сбраживающих маслянокислых микроорганизмов, н.в.ч./дм <sup>3</sup> , не более:			
сыры с низкой температурой второго нагревания	13 000	Не реже одного раза в 10 дней	В каждой партии
сыры с высокой температурой второго нагревания	2500		
Класс по сычужно-бродильной или сычужной пробе, не ниже	I, II	Не реже одного раза в 10 дней	

Таблица 6.5

**Общие микробиологические показатели безопасности и качества сливок-сырья**

Наименование показателя	Нормируемые значения	Рекомендуемая периодичность контроля	
		при нормальном контроле	при усиленном контроле*
КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup> , не более	$5 \cdot 10^5 - 1 \cdot 10^6$	Не реже одного раза в 10 дней	В каждой партии
Класс по редуцтазной пробе	I, II		
Антибиотики и ингибирующие вещества	Отсутствуют		

*Примечание.* \*Результаты контроля записываются в журнал.

Молоко после дойки должно быть профильтровано (очищено). Охлаждение молока проводят в хозяйствах не позднее 2 ч после дойки до температуры  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ . До начала промышленной переработки допускается хранение сырого молока, сырого обезжиренного молока (включая период хранения сырого молока, используемого для сепарирования) при температуре  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ , сырых сливок — при температуре не выше  $8^\circ\text{C}$  не более 36 ч (включая время перевозки), а

при производстве продуктов детского питания для детей раннего возраста не более 24 ч (включая время перевозки).

## 6.5. СПОСОБЫ СНИЖЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ОБСЕМЕНЕННОСТИ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ПИТЬЕВОГО МОЛОКА И СЛИВОК

Молоко является хорошей питательной средой для развития как полезной, так и технически вредной и патогенной микрофлоры. В ходе технологической обработки при производстве питьевого молока и сливок молоко подвергается различным технологическим операциям, направленным на снижение бактериальной обсемененности готового продукта.

На предприятиях молочной отрасли с целью снижения бактериальной обсемененности и предотвращения пороков молока проводятся следующие операции:

— механическая очистка (фильтрование, центрифугирование, бактофугирование, микрофльтрация);

— охлаждение до 2–4°C (замедление развития мезофильной и термофильной микрофлоры, но возможно развитие психрофильной микрофлоры), продолжительность хранения не более 2 суток;

— тепловая обработка (уничтожение микроорганизмов и инактивация ферментов). Виды тепловой обработки молока: термизация, пастеризация, стерилизация, ультрапастеризация, низкотемпературная миллисекундная пастеризация.

**Термизация** — предварительная обработка молока при температуре  $65 \pm 2^\circ\text{C}$  с выдержкой 20–25 с. При хранении молока (особенно на фермах), в значительной степени обсемененного психрофильными бактериями, происходит накопление продуктов их жизнедеятельности. В этом случае эффект термизации снижается, так как она хотя и уничтожает бактериальные клетки, но не тормозит действия выделяемых ими ферментов, способствующих порче молока.

При термизации практически уничтожаются все клетки группы кишечных палочек, но не обеспечивается достаточно полное уничтожение микрофлоры, поэтому этот вид термической обработки применяют в комбинации с обязательной последующей пастеризацией молока.

**Пастеризация.** Главной целью пастеризации является уничтожение вегетативных форм бактерий и инактивация ферментов. Температура обработки менее  $100^\circ\text{C}$ . При этом происходит снижение содержания в молоке патогенных и технически вредных микроорганизмов до уровня, при котором они при последующем нормальном ходе технологического процесса не могут нанести ущерба качеству готового продукта.

Степень уничтожения микроорганизмов в процессе пастеризации зависит от следующих факторов: исходного количества микроорганизмов в сыром молоке, температуры и продолжительности нагревания; видового состава сапрофитной микрофлоры сырого молока; правильной эксплуатации пастеризационно-охладительных установок.

Существует два режима пастеризации — низкотемпературная (72–77°C в течение 15–20 с) и высокотемпературная (78–100°C с выдержкой в течение нескольких минут). Молоко для заквасок пастеризуют при температуре 92–95°C с выдержкой 20–30 мин. При таком режиме в молоке уничтожаются вегетативные формы бактерий и бактериофаги, остаются только споры бактерий.

Пастеризация считается эффективной, если количество остаточной микрофлоры составляет менее 0,1% от исходной; КМАФАнМ не должно превышать  $10^3$  КОЕ/см<sup>3</sup>, БГКП должны отсутствовать в 10 см<sup>3</sup> молока после пастеризатора, проба на фосфатазу должна быть отрицательной.

При производстве питьевого молока наиболее распространенный режим пастеризации: температура 76°C с выдержкой 15–20 с. При сильном обсеменении сырого молока (более  $10^6$  в 1 см<sup>3</sup>) эффективность пастеризации снижается, поэтому применяют более жесткий режим пастеризации: температура 75–77°C и выдержка 20 с.

Молоко после пастеризации и охлаждения поступает на промежуточное хранение и фасование, где оно может дополнительно обсеменяться (вторичное обсеменение) бактериями группы кишечных палочек, психротрофными бактериями, мезофильными и термофильными микроорганизмами, термоустойчивыми палочками, иногда могут выявляться дрожжи и уксуснокислые бактерии. Эта микрофлора вместе с остаточной микрофлорой молока после пастеризации составляет микрофлору пастеризованного молока. Микрофлора, которая выдерживает пастеризацию молока: термостойкие грамположительные бактерии, относящиеся к родам *Enterococcus*, *Streptococcus* (особенно *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*), *Microbacterium*, *Lactobacillus*, *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, и споровые формы бактерий выживают. В пастеризованном молоке также могут встречаться психрофильные виды бактерий рода *Bacillus*.

Для питьевых сливок режим пастеризации: 80–87°C с выдержкой 15–30 с или другой в соответствии с документацией. Более жесткий режим пастеризации для сливок объясняется тем, что молочный жир оказывает защитное действие на микроорганизмы, а также термоустойчивостью фермента — липазы.

**Стерилизация.** При стерилизации молока уничтожаются как вегетативные, так и споровые формы микроорганизмов. Температура обработки выше 100°C. В молочной отрасли применяют два вида стерилизации: длительную в аппаратах периодического, полунепрерывного, непрерывного действия и кратковременную в потоке.

Наиболее современный и распространенный способ производства стерилизованного молока — однократная стерилизация в потоке с последующим

асептическим розливом. Режим стерилизации при этом способе — 140–150°C в течение 4–8 с.

При двухступенчатом способе стерилизации молока применяют режим: 140°C в течение 20 с, охлаждение до 35–40°C, розлив в тару, повторная стерилизация при температуре 116–118°C в течение 12–16 мин.

Производство стерилизованных сливок осуществляют по схеме выработки молока при двухступенчатом способе стерилизации.

При стерилизации молочного сырья могут применять и другие режимы, что связано с применяемым оборудованием.

**Ультрапастеризация** — процесс термической обработки сырого молока и продуктов его переработки, осуществляется в потоке в закрытой системе с выдержкой не менее чем две секунды одним из следующих способов:

а) путем контакта обрабатываемого продукта с нагретой поверхностью при температуре 125–140°C;

б) путем прямого смешивания стерильного пара с обрабатываемым продуктом при температуре 135–140°C.

Ультрапастеризация с последующим асептическим упаковыванием обеспечивает соответствие продукта требованиям промышленной стерильности.

**Низкотемпературная миллисекундная пастеризация (метод МСТ).** Это инновационная технология тепловой обработки молока. Сущность метода МСТ заключается в совокупности воздействия на жидкий пищевой продукт двух факторов: высокоскоростного изменения давления и сверхбыстрого нагрева продукта в течение нескольких миллисекунд. В камере МСТ продукт распыляется с большим перепадом давления, диспергируясь в капли размером 2–3 мкм. Поток капель пролетает вдоль нагретых паром стенок камеры со скоростью порядка 10 м/с, подвергаясь резкому нагреву. В нижней части камеры МСТ продукт собирается и направляется для охлаждения. Продолжительность пребывания продукта в камере МСТ несколько секунд и зависит от ее размеров и производительности. В результате такого воздействия происходит разрушение ядерной мембраны клетки микроорганизма, в то время как при стандартной обработке происходит денатурация белка клетки микроорганизма.

Реализация нового механизма инактивирующего действия позволяет обеспечивать более высокую степень обработки, при этом продукт подвергается нагреву до температуры ниже общепринятой при пастеризации молока (менее 70°C). Режим МСТ обработки:

— преднагрев от температур < 12°C до 57,2°C в течение 80 с;

— внутри камеры МСТ продолжительность обработки 0,002 с, затем выдержка при температуре < 70°C в течение 1 с и охлаждение до 60°C в течение 4 с;

— охлаждение от 60°C до < 8°C в течение 60 с.

Молоко, подвергнутое МСТ-обработке, можно хранить до 63 дней.

## 6.6. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПАСТЕРИЗОВАННОГО ПИТЬЕВОГО МОЛОКА И ПИТЬЕВЫХ СЛИВОК

Основные критические контрольные точки при производстве жидких пастеризованных продуктов на молочной основе — сырье, пастеризация, охлаждение, промежуточное хранение, фасование, готовый продукт, хранение.

Проверку соблюдения параметров пастеризации молочного сырья проводят ежедневно по анализу термограмм каждого пастеризационного аппарата. При выявлении отклонения от заданного режима пастеризации выявляют его причины и сообщают об этом техническому руководству предприятия для принятия мер по ликвидации технических неполадок. Параллельно проводят контроль эффективности пастеризации микробиологическим методом: путем испытания проб, отобранных после секции охлаждения, на наличие санитарно-показательных микроорганизмов (БГКП и КМАФАнМ), а также определение щелочной или кислой фосфатазы, или пероксидазы в зависимости от вида пастеризации (низкотемпературная или высокотемпературная).

Если в результате анализа установлено, что эффективность пастеризации недостаточна, то пастеризационная установка должна быть остановлена до установления и устранения причин снижения эффективности пастеризации (наиболее опасной точкой является возвратный клапан и микротрещины).

Плановый контроль эффективности пастеризации проводится не реже одного раза в 10 дней, независимо от качества готового продукта. При снижении качества готового продукта или при выявлении превышения допустимых норм его бактериальной обсемененности проводят внеплановый контроль эффективности пастеризации.

**Охлаждение.** После пастеризации продукт необходимо быстро охладить до температуры 4–6°C для ограничения развития остаточной и вторичного обсеменения микрофлоры.

**Фасование.** Источником вторичного обсеменения продукта во время фасования является оборудование, воздух и упаковочные материалы.

**Готовый продукт.** Микробиологические показатели, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля жидких пастеризованных и стерилизованных продуктов из молока и сливок представлены в таблице 6.6.

*Таблица 6.6*

### Микробиологический контроль жидких пастеризованных и стерилизованных продуктов из молока и сливок

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
<b>Молоко питьевое в потребительской таре, пастеризованное</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup> , не более	1·10 <sup>5</sup>	Не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см <sup>3</sup>	0,01	

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
<b>Молоко питьевое в потребительской таре, стерилизованное, ультрапастеризованное (с асептическим розливом)</b>		
<b>Требования промышленной стерильности:</b>		
Прирост титруемой кислотности, °Т, не более	2	Каждая партия
КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup> , не более	10	

**Хранение.** Жидкие пастеризованные продукты из молока и сливок должны храниться при температуре  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ .

В молоке и сливках пастеризованных нормируются не только показатели КМАФАнМ и БГКП (колиформы), но и патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы, *S. aureus*, *L. monocytogenes*.

## 6.7. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОЛУЧЕНИЯ СТЕРИЛИЗОВАННОГО МОЛОКА (СЛИВОК)

Для получения высококачественного стерилизованного молока особое значение имеет качество сырья, которое должно обладать повышенной термостойкостью (по алкогольной пробе не ниже второй группы).

Термостойкость — это способность молока выдерживать воздействие высоких температур без коагуляции белков. Ее выражают количеством времени, необходимым для коагуляции белков молока при 130 или 140°C. Для различных образцов молока она колеблется от 2 до 60 мин и выше.

На термостойкость молока влияет несколько факторов — кислотность, солевой и белковый состав молока, СОМО, которые, в свою очередь, зависят от времени года, стадии лактации, болезней, индивидуальных особенностей животных, рационов кормления и т. д. Основным фактором термостойкости является солевой состав молока — соотношение солей кальция и магния, с одной стороны, и фосфатов, цитратов — с другой.

С целью повышения термостойкости молока на предприятиях применяют соли-стабилизаторы, разрешенные нормативными документами: натрий лимоннокислый, калий лимоннокислый трехзамещенный, калий фосфорнокислый двузамещенный, натрий фосфорнокислый двузамещенный. Можно также применять технологическую операцию — предварительная стерилизация или сгущение перед ультравысокотемпературной обработкой.

Алкогольная проба является единственной гостированной методикой для определения термостойкости (ГОСТ 25228 «Молоко и сливки. Метод определения термостойкости по алкогольной пробе»). Сущность метода заключается в следующем: берется смесь из 2 см<sup>3</sup> молока и 2 см<sup>3</sup> спирта (68, 70, 72, 75, 80%) и перемешивается в чашке Петри с темным дном или на молочноконтрольной пластинке. Если при 68%-ном растворе спирта выделяются хлопья, то молоко не поддается переработке, а если при внесении 75%-ного спирта

не образуется хлопьев, то молоко относят ко II группе по термоустойчивости и его можно использовать для производства стерилизованных продуктов.

Стерилизованные и ультрапастеризованные с асептическим розливом продукты должны соответствовать требованиям промышленной стерильности.

Метод определения промышленной стерильности основан на способности микроорганизмов, выдержавших стерилизацию, размножиться и давать рост в стерилизованных молочных продуктах при термостатировании и вызывать в них органолептические и физико-химические изменения.

Отобранные единицы потребительской тары со стерилизованным или ультрапастеризованным (с асептическим розливом) продуктом выдерживают в термостате при температуре  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  в течение 3 суток, со сливками — в течение 5 суток. Образцы молока, выработанного двухступенчатым способом, кроме того, выдерживают при температуре  $55^\circ\text{C}$  в течение 5 суток для выявления спор термофильных аэробных бактерий.

По истечении срока термостатной выдержки упаковочные единицы с продуктом охлаждают до  $20 \pm 5^\circ\text{C}$  и подвергают внешнему осмотру. При наличии вздутия крышки или доньшка упаковки, не опадающего при нажатии пальцами, упаковочную единицу с продуктом считают бракованной. Упаковку без внешних дефектов вскрывают, а готовый продукт подвергают органолептической оценке (не должно быть изменений консистенции и вкуса).

Продукт отвечает требованиям промышленной стерильности, если кислотность молока увеличилась не более чем на  $2^\circ\text{T}$ , в микроскопическом препарате отсутствуют клетки бактерий, а общее количество микроорганизмов в  $1 \text{ см}^3$  не превышает 10.

## 6.8. ПОРОКИ ПИТЬЕВОГО МОЛОКА И СЛИВОК

При несоблюдении требований к сырью, технологическому процессу и санитарно-гигиеническим условиям возможно появление различных пороков питьевого молока (сливок).

### ПОРОКИ КОНСИСТЕНЦИИ

**Свертывание без повышения кислотности.** Порок заключается в том, что молоко, имеющее нормальную кислотность или незначительно повышенную, свертывается при нагревании.

*Причина порока.* При нормальной кислотности молоко свертывается вследствие развития спорообразующих мезофильных гнилостных бактерий *Bac. subtilis*, термофильных микроорганизмов *Bac. circulans* и *Bac. coagulans*, а также под действием термостойких протеолитических ферментов, выделенных психрофилами (например, *Bacillus weihenstephanensis*) при хранении сырого молока.

При незначительном повышении кислотности порок возникает в результате развития микрококков и маммококков.

**Кислотное свертывание.** Причина порока — развитие термоустойчивых и других молочнокислых бактерий при хранении продукта в обычных условиях.

## ПОРОКИ ВКУСА

**Горький вкус.** Порок вызывают протеолитические микроорганизмы, обычно из рода бацилл. Горький вкус, возникающий с изменением консистенции (свертывание, пептонизация), обусловлен развитием спорообразующих мезофильных гнилостных микроорганизмов, а также термофильных бактерий вида *Bac. circulans* и *Bac. coagulans*.

Горький вкус без изменения консистенции вызывают *Bac. stearothermophilus* и другие термофильные бациллы.

**Прогорклый вкус.** Порок вызывают маслянокислые бактерии, которые расщепляют жир и белок молока с образованием масляной кислоты, альдегидов и кетонов.

## ПОРОК СМЕШАННОГО ХАРАКТЕРА

**«Бродящее» молоко.** Порок выражается в усиленном выделении газов, образующих пену. Одновременно с этим появляются и различные запахи (дрожжевой или спиртовой, запах масляной кислоты). Порок вызывают газообразующие анаэробные кластридии и дрожжи.

## ВЫВОДЫ

1. Сырое молоко — основной источник патогенных, условно-патогенных и технически вредных микроорганизмов в молочных продуктах. Микробиологическая обсемененность сырого молока зависит от уровня санитарно-гигиенических условий получения молока на ферме, условий хранения и транспортирования молока до момента его переработки.

2. Молоко должно соответствовать требованиям нормативных документов, обеспечивающих получение безопасной готовой продукции, и до начала технологического процесса обязательно пройти температурную обработку. Все другие способы снижения бактериальной обсемененности могут быть использованы только как дополнительные приемы обработки молока. С целью снижения бактериальной обсемененности и предотвращения пороков питьевого молока и сливок молоко-сырье обязательно подвергают механической очистке, охлаждению (при резервировании) и тепловой обработке.

3. При производстве пастеризованного питьевого молока или сливок в целях получения готового продукта, отвечающего по микробиологическим показателям требованиям нормативных документов, проводят микробиологиче-

ский контроль в критических контрольных точках технологического процесса: сырье, пастеризация, охлаждение, промежуточное хранение, фасование, готовый продукт, хранение. Эффективность пастеризации проверяют по фосфатазной пробе и по анализу термограмм каждого пастеризационного аппарата.

4. При производстве стерилизованного питьевого молока или сливок молоко-сырье проверяют на термоустойчивость. Стерилизованные и ультрапастеризованные с асептическим розливом продукты должны соответствовать требованиям промышленной стерильности.

## ЗАДАНИЯ ДЛЯ РАЗБОРА КОНКРЕТНЫХ СИТУАЦИЙ

1. Сырое молоко, поступившее на молочный комбинат, имеет повышенную кислотность и красноватые пятна на поверхности. Определите возможные причины порока, меры его предупреждения и возможные направления переработки молока.

2. После термостатирования сырого молока, предназначенного для производства сыров, образовался ноздреватый сгусток с неприятным запахом. Определите возможные причины порока, меры его предупреждения и возможные направления переработки молока.

3. Пастеризованное молоко имеет неприятный гнилостный запах. Определите возможные причины и меры предупреждения порока продукта.

4. Пастеризованные сливки имеют неприятный прогорклый запах, желтоватый налет и синеватые пятна на поверхности. Определите возможные причины и меры предупреждения порока продукта.

5. Из торговли была возвращена партия стерилизованного молока со вздувшейся упаковкой и неприятным запахом. Определите возможные причины и меры предупреждения порока продукта.

## ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

### БАЗОВЫЙ УРОВЕНЬ

1. Назовите способы снижения бактериальной обсемененности молока.
2. Основные критические контрольные точки при производстве пастеризованного молока и сливок.
3. Как осуществляют микробиологический контроль пастеризованного молока и сливок?
4. Как определяют термоустойчивость сырого молока при производстве стерилизованного и ультрапастеризованного (с асептическим розливом) молока?
5. Назовите пороки питьевого молока и сливок.
6. Источники эндогенного обсеменения молока.
7. Источники экзогенного обсеменения молока.

8. Фазы развития микрофлоры сырого молока в процессе хранения.
9. Требования, предъявляемые к сырому молоку.
10. Микробиологический контроль сырого молока и сливок.
11. Пороки сырого молока и меры их предупреждения.
12. В каких случаях проводят усиленный контроль сырого молока?

### ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ

1. Виды и режимы термической обработки молока и сливок.
2. Как изменяется микрофлора в процессе технологической обработки при производстве пастеризованного молока? Состав микрофлоры пастеризованного молока.
3. Методы определения эффективности пастеризации молока и сливок.
4. Метод определения промышленной стерильности молока и сливок.
5. Какая микрофлора вызывает пороки консистенции и вкуса в питьевом молоке и сливках?
6. Понятие «нормальная микрофлора молока».
7. Какие таксономические группы микроорганизмов присутствуют в сыром молоке?
8. Охарактеризуйте фазу молочнокислых микроорганизмов.
9. Основные показатели идентификации качества сырого молока.

### РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА И ИНТЕРНЕТ-ИСТОЧНИКИ

1. Арофикин, Н. В. МСТ — новое слово в технологии переработки молока // Переработка молока. — № 5. — 2009. — С. 29.
2. Банникова, Л. А. Микробиологические основы молочного производства : справочник / Л. А. Банникова, Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. — М. : Агропромиздат, 1987. — 400 с.
3. Билетова, Н. В. Санитарная микробиология / Н. В. Билетова, Р. П. Корнелаева, Л. Г. Кострикина [и др.]. — М. : Пищевая промышленность, 1980. — 352 с.
4. Ганина, В. И. Микробиологический контроль сырого молока / Молочная промышленность. — № 2. — 2010. — С. 12, 13.
5. Ганина, В. И. Техническая микробиология продуктов животного происхождения : учеб. пособие / В. И. Ганина, Н. С. Королева, С. А. Фильчакова. — М. : ДеЛи принт, 2008. — 352 с.
6. Ганина, В. И. Производственный контроль молочной продукции : учебник / В. И. Ганина, Л. А. Борисова, В. В. Морозова. — М. : ИНФРА-М, 2016. — 248 с.
7. Дегтерев, Г. П. Производство качественного и безопасного молока-сырья / Г. П. Дегтерев, К. А. Тимирязева, А. И. Остроухов // Переработка молока. — № 4. — 2013.
8. Королева, Н. С. Санитарная микробиология молока и молочных продуктов / Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. — М. : Пищевая промышленность, 1980. — 256 с.

9. Литвина, Л. А. Микробиология молока : учеб.-метод. пособие / Л. А. Литвина, В. Г. Горских, И. Ю. Анфилофьева. — Новосибирск : Изд-во НГАУ, 2012. — 112 с.

10. Свириденко, Г. М. Анализ основных положений, определяемых ТР ТС относительно норм безопасности молока и молочных продуктов // Переработка молока. — № 11. — 2004. — С. 6–10.

11. Степаненко, П. П. Микробиология молока и молочных продуктов : учебник. — Сергиев Посад : Все для Вас — Подмоскowie, 2002. — 415 с. // [http://mppnik.ru/load/molochnaja\\_promyshlennost/stepanenko\\_p\\_p\\_mikrobiologija\\_moloka\\_i\\_molochnykh\\_produktov/5-1-0-110](http://mppnik.ru/load/molochnaja_promyshlennost/stepanenko_p_p_mikrobiologija_moloka_i_molochnykh_produktov/5-1-0-110).

## 7. МИКРОБИОЛОГИЯ ЗАКВАСОК

### 7.1. КЛАССИФИКАЦИЯ ЗАКВАСОК

**Закваски (стартовые культуры)** — культуры микроорганизмов, которые используют при изготовлении продуктов, в том числе молочных — кисломолочных напитков, сметаны, творога, сыров, кисломолочного масла, кисломолочного мороженого.

В основе классификации заквасок лежат следующие основные признаки, которые тесно взаимосвязаны: назначение, состав микрофлоры, взаимоотношения между видами; концентрация клеток; форма (консистенция, способ производства).

По назначению закваски делятся на закваски для творога, сметаны, йогурта, ряженки, кефира, простокваши, сыров разных групп, кисломолочного масла, для пробиотических (лечебно-профилактических) продуктов и т. д.

По составу микрофлоры различают монокультуры или культуры одного вида — моновидовые (одноштабные, многоштабные), поливидовые (два и более видов); по типу строения клеток — бактериальные (только прокариоты), смешанные бактериально-грибковые (например, для плесневых сыров).

В сложных по составу заквасках наблюдаются разные уровни взаимоотношений между микроорганизмами:

- комбинация видов;
- консорциумы микроорганизмов (более высокий уровень взаимодействия, положительное влияние друг на друга);
- симбиотические (взаимопольное сожительство нескольких видов, мутуализм — идеальный симбиоз, пример — кефирный грибок).

Чаще всего (для творога, сметаны, простокваши, кисломолочного масла, сыров) используют смешанные поливидовые культуры, включающие активные кислотообразователи (молочный и сливочный лактококки) и ароматообразующие микроорганизмы (подвид, образующий диацетил, лейконостоки); в йогуртах — термофильный стрептококк и болгарская палочка и т. д. В основе заквасок — молочнокислые микроорганизмы, но есть и другая микрофлора (например, пропионовокислые бактерии, плесени в сыроделии, дрожжи в айране и кумысе, бифидобактерии).

По концентрации клеток различают:

- закваски бактериальные БЗ без концентрирования ( $10^7$ – $10^{10}$  кл/г);
- закваски бактериальные концентрированные (закваски прямого внесения, бактериальные концентраты БК) ( $10^{10}$ – $10^{12}$ ).

Закваски бактериальные без концентрирования применяют по схеме: сухая закваска → лабораторная на стерильном молоке → производственная на пастеризованном молоке → производство продукта. При приготовлении закваски беспересадочным способом (например, одна порция на 300 л производст-

венной закваски) используются после активизации в стерильном или пастеризованном молоке.

Закваски бактериальные концентрированные (прямого внесения или DVS культуры) имеют очень высокую концентрацию жизнеспособных активных клеток ( $10^{11}$ – $10^{12}$  в 1 г), используются для непосредственного внесения в нормализованную смесь для получения продукта.

Закваски прямого внесения (сухие и замороженные) имеют следующие преимущества: исключение операций приготовления лабораторных, промежуточных, производственных заквасок; стабилизация сквашивающей активности за счет исключения лизиса культур бактериофагом на промежуточных этапах подготовки; длительные сроки хранения, обеспечение заданного равновесия между штаммами и видами; стабильное улучшение аромата. К недостаткам заквасок бактериальных концентрированных относится высокая стоимость.

По форме (физическое состояние, способ производства) закваски бывают жидкие; сухие — получаемые сублимационной сушкой, распылительной сушкой; замороженные; на плотных питательных средах (плесени).

Жидкие закваски (из лабораторий чистых культур): недорогие, чистые в микробиологическом отношении (на стерилизованном молоке), высокая активность; недостаток — ограниченный срок хранения (до 2 недель в холодильнике, снижается активность), целесообразно использовать, если завод находится вблизи лаборатории чистых культур.

Сухие — культуры (концентрированные или неконцентрированные), высушенные в период наибольшей активности и накопления максимальной биомассы, их легко транспортировать, долго хранятся (7–24 мес.). Для сохранения жизнеспособности используются специальные защитные среды.

Замороженные закваски (концентрированные), замороженные в период наибольшей активности и накопления максимальной биомассы, долго хранятся (7–18 мес.). Для сохранения жизнеспособности используются специальные защитные среды. Недостатки — хранение и транспортирование при минусовых температурах.

В технологии молочной продукции применяют следующие отечественные закваски:

— для творога в состав включают лактококки *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar. diacetilactis* с добавлением или без добавления *Lactococcus lactis subsp. cremoris* (отечественные — ЛТ, КД, КЛ и др.); лактококки и термофильные молочнокислые стрептококки *Str. thermophilus* (отечественные — ЛТТ, КЛТТ и др.);

— для зерненого творога в состав включают лактококки *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar. diacetilactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris* с добавлением или без добавления *Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum* (отечественные — ЛД и др.);

— для сметаны в состав включают лактококки (отечественные — ЛС, КЛС и др.); лактококки и термофильные молочнокислые стрептококки (отече-

ственные — ЛТС, КЛТС и др.); *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis* (отечественные — КДС, ККД и др.);

— для простокваши, варенца, ряженки и других продуктов, вырабатываемых резервуарным способом, в состав включают вязкие штаммы термофильного стрептококка (отечественные — ТВП, КТС и др.);

— для простокваши, варенца, ряженки и других продуктов, вырабатываемых термостатным способом, в состав включают невязкие штаммы термофильного стрептококка (отечественные — ТНВП, КТСН и др.);

— для ацидофильных и пробиотических продуктов в состав включают штаммы *Lactobacillus acidophilus* (отечественные — АД, АВ, АНВ, КА и др.);

— для традиционного йогурта и других продуктов в состав заквасок включают симбиотически сочетающиеся культуры термофильного стрептококка и болгарской палочки — *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (отечественные — СТБП, КТСБ);

— для йогурта с пробиотическими свойствами отечественные и импортируемые из-за рубежа, разрешенные к применению в установленном порядке (например, компаниями «Хр. Хансен», «Даниско» и др.);

— для пробиотических продуктов — закваска бифидобактерий, состоящая из одного или нескольких видов бифидобактерий (отечественные — КБЛ, ККБ и др.);

— для функциональных продуктов, включая про- и синбиотические продукты, в состав заквасок входят бифидобактерии и/или лактобактерии (*Lactobacillus casei* и/или *Lactobacillus plantarum* и др.), или пропионовокислые бактерии (отечественная — ПШ и др.) и их ассоциации;

— для кисломолочных продуктов в состав заквасок входит *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (отечественная — БН и др.);

— для кисломолочного продукта «Тонус» в состав закваски входят ароматообразующие лактококки, *Acetobacter subsp. aceti*, *Propionibacterium*;

— для кефира — грибки кефирные;

— кефирные культуры, импортируемые из-за рубежа и предназначенные для производства кефирного продукта;

— для кумыса, айрана, тана и других в состав заквасок входят дрожжи, сбраживающие лактозу (отечественный штамм SK и др.);

— для кисломолочного масла в состав заквасок входят *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis*, *Propionibacterium*;

— для сыров с низкой температурой второго нагревания и сырных продуктов в состав заквасок включают *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis*, *Lactobacillus casei*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris*;

— для сыров с высокой температурой второго нагревания и сырных продуктов в состав заквасок включают *Lactobacillus lactis* и *Lactobacillus helveticus*, а также термофильный стрептококк;

— для сыра Чеддер и рассольных сыров закваски состоят из *Lactobacillus casei*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*;

— для сыров и сырных продуктов с плесенью в состав заквасок входят *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camamberti*, *Penicillium candidum*, *Penicillium album* и др.;

— для сыров и сырных продуктов слизневых в состав заквасок входят *Brevibacterium linens* и др.;

— для кисломолочного мороженого в состав заквасок включают йогуртные культуры (термофильный молочнокислый стрептококк, болгарская палочка), а также закваски могут включать пробиотические бактерии (молочнокислые палочки, бифидобактерии) и др.

Закваски, поставляемые зарубежными фирмами в нашу страну и состоящие из мезофильных молочнокислых бактерий, делят на 5 групп: так называемые нулевые (0), L, D, LD и ароматические закваски. Нулевые закваски содержат только штаммы *Lac. lactis*. Селекция штаммов этих заквасок направлена на активное кислотообразование и минимальное газообразование. Закваски L состоят из нулевых заквасок, а также *Leu. cremoris*. Наряду с молочной кислотой закваска вырабатывает диацетил, ацетоин, летучие кислоты и CO<sub>2</sub>. В заквасках D кроме представителей нулевой закваски содержится *Lac. diacetylactis*. Эти закваски производят диацетил и ацетоин в большом количестве, в них более интенсивно образуется CO<sub>2</sub>. Закваски LD состоят из молочнокислых кокков, входящих в состав нулевых заквасок, а также *Leu. cremoris* и *Lac. diacetylactis*. В этих заквасках прослеживается тенденция *Lac. diacetylactis* доминировать над другими микроорганизмами. Так называемые ароматические закваски состоят из штаммов *Leu. dextranicum*, *Leu. cremoris*, *Lac. diacetylactis*, применяемых для стимулирования ароматообразования в определенных продуктах.

## 7.2. ТРЕБОВАНИЯ К ТРАДИЦИОННЫМ И ПРОБИОТИЧЕСКИМ ЗАКВАСКАМ

К закваскам, традиционно применяемым в молочной промышленности, предъявляют следующие основные требования:

- безопасность;
- обеспечение необходимых свойств готового продукта (в зависимости от вида, назначения, сырья) — кислотности, вкуса, запаха, консистенции и т. д.;
- высокая активность кислотообразования при сквашивании, низкая постокислительная активность;
- устойчивость к бактериофагам;
- устойчивость к сезонным колебаниям качества молока, ингибиторам;
- подавление санитарно-показательной, патогенной и условно-патогенной микрофлоры, возбудителей пороков;
- устойчивость к лиофилизации и хранению;
- экономическая эффективность.

К пробиотическим закваскам предъявляются дополнительные требования:

— устойчивость к веществам желудочно-кишечного тракта (соляной кислоте, желчи, ферментам);

— адгезивная способность (способность прилипать и приживаться на стенках ЖКТ);

— устойчивость к антибиотикам;

— подавление вредной микрофлоры, в том числе гнилостной и патогенной;

— продуцирование ферментов, витаминов, полисахаридов;

— доказанный положительный эффект для здоровья.

Активность развития и жизнеспособность микрофлоры заквасок зависит от:

— используемых видов и штаммов, взаимодействия между ними;

— особенностей метаболизма, прежде всего способности образовывать кислоту, пероксид водорода и антибиотические вещества;

— количества вносимой закваски, режимов сквашивания, созревания, хранения продукта;

— наличия питательных веществ, ускоряющих и замедляющих рост;

— концентрации растворимого кислорода;

— качества молочного сырья.

Важнейшим критерием для объединения отдельных штаммов в многоштабмовые закваски является сочетаемость видов и штаммов. В идеале должна наблюдаться взаимная стимуляция заквасочных микроорганизмов и подавление развития посторонней нежелательной микрофлоры. Антагонистическое действие заквасочной микрофлоры может иметь несколько причин: образование антибиотиков, продуктов обмена, оказывающих ингибирующее действие; разная скорость адаптации штаммов к конкретной питательной среде; темп размножения и др.

Примером использования антагонистических свойств молочнокислых бактерий являются закваски на основе штаммов *Lac. lactis*, образующих антибиотик низин, который препятствует прорастанию спор бацилл и клостридий; штаммов *Lac. plantarum*, которые образуют незначительные количества пероксида водорода, задерживающего развитие маслянокислых бактерий. В закваску для творога вводят штаммы *Lac. cremoris*, образующие антибиотик диплококцин, ингибирующий развитие кишечных палочек.

Штаммы, вводимые в состав заквасок, проверяют на чувствительность к бактериофагам. Для проверок используют широко распространенные бактериофаги, как правило, коллекционные. В питательную среду (плотную или жидкую), инфицированную бактериофагом, высевают проверяемый штамм бактерий. При этом, если наступает лизис бактерий, на плотной питательной среде появляются зоны просветления, так называемые негативные колонии, в которых нет роста бактерий.

В состав заквасок вводят штаммы, которые не лизируются ни одним штаммом или лизируются немногими штаммами бактериофагов (индекс фаго-

устойчивости должен быть не менее 90%). Для предотвращения развития бактериофага применяют многоштаммовые закваски. При этом, если в закваске появляется фаг, он лизирует один-два штамма, остальные продолжают развиваться, обеспечивая процесс ферментации молочного сыра.

### 7.3. ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ СОЗДАНИЯ И ПРОИЗВОДСТВА ЗАКВАСОК

К основным этапам создания заквасок относятся следующие:

- выделение, идентификация и исследование свойств чистых культур в зависимости от назначения;
- создание комбинированных заквасок, изучение взаимодействия микроорганизмов;
- разработка консорциумов;
- проверка стабильности заквасок в лаборатории на производстве;
- внедрение в производство;
- совершенствование закваски.

Промышленное производство сухих заквасок прямого внесения включает следующие процессы:

- выращивание молочнокислых бактерий в обогащенных питательных средах до максимального накопления биомассы;
- концентрирование клеток (отделение их от питательной среды на суперцентрифугах или путем микрофльтрации);
- сушка в защитной среде (сублимационная в лотках или флаконах) до содержания влаги менее 3,5%;
- фасовка закваски.

Питательной средой для выращивания молочнокислых бактерий является молочная сыворотка с добавлением кукурузного экстракта (или аминокислотно-микроэлементно-витаминного комплекса), буферных солей и стимуляторов роста. В качестве буферных солей используют цитрат натрия или ацетат натрия. Стимуляторами роста молочнокислых бактерий являются сульфат марганца, аскорбиновая кислота и др.

Молочнокислые бактерии различаются по потребности в стимуляторах роста, поэтому для выращивания мезофильных молочнокислых бактерий, термофильных молочнокислых стрептококков и молочнокислых палочек используются различные питательные среды.

При приготовлении среды в сыворотке устанавливают рН 4,5–4,6 (оптимальную для выделения белков), нагревают ее до 95°C и выдерживают 60 мин для более полного выделения белков. После этого сыворотку осветляют путем сепарирования. В осветленную сыворотку добавляют компоненты среды согласно рецептуре, устанавливают рациональный уровень рН, стерилизуют при 0,05 МПа (112°C) в течение 60 мин и охлаждают до температуры, оптимальной для роста микроорганизмов.

Стерилизация и охлаждение питательной среды, а также наращивание клеток молочнокислых бактерий осуществляются в ферментере, имеющем мешалку, в котором автоматически регулируются температура и рН на заданном уровне.

В подготовленную стерильную среду, охлажденную до оптимальной температуры развития того или иного вида молочнокислых бактерий, подают закваску в количестве 5–8% (на сывороточной среде) или 3–5% (на обезжиренном молоке).

Наращивание клеток мезофильных молочнокислых бактерий ведут в ферментере при температуре 30°C в течение 10–12 ч, термофильных молочнокислых стрептококков и ацидофильных и болгарских палочек — при 40°C на протяжении 8–9 ч при автоматическом поддержании рН. При этом рН культуральной жидкости достигает для лактококков и стрептококков 6,5–6,8, а для ацидофильных и болгарских палочек 5,7–6,0. После окончания выращивания культуру охлаждают до 3–8°C и направляют на бактофутирование для получения концентрированной бактериальной массы.

Отделение клеток от среды осуществляют в конце логарифмической фазы роста, когда в 1 см<sup>3</sup> культуральной жидкости содержатся сотни миллионов — единицы миллиардов активных клеток. Для концентрирования биомассы можно использовать бактофугу или ультрафильтрационную установку.

Концентрированная бактериальная масса содержит сотни миллиардов клеток в 1 см<sup>3</sup>; выход концентрированной биомассы составляет 0,5–0,8%. Полученную бактериальную массу смешивают с защитной средой в соотношении 1:2–1:4. На отечественных биофабриках в составе защитной среды для мезофильных молочнокислых бактерий применяют: обезжиренное молоко с содержанием 16% сухих веществ — 30 и 70% водного раствора, содержащего сахарозу (5%), желатозу (5%), цитрата натрия (5%), глутамата натрия (2%). В состав защитной среды для ацидофильной палочки вместо цитрата натрия вносят 5% уксуснокислого натрия. Защитная среда для термофильного стрептококка включает 20% обезжиренного молока и 80% водного раствора, содержащего по 2,2% сахарозы, желатозы (желатин после стерилизации под давлением 0,15 МПа в течение 2,5–3,0 ч), лимоннокислого натрия и 1,2% глутамата натрия.

Полученную суспензию клеток молочнокислых бактерий высушивают. Для этого ее разливают на лотки слоем 6–8 мм или фасуют по 2 см<sup>3</sup> во флаконы. Суспензию высушивают в установке для сублимационной сушки сначала при низкой отрицательной температуре –35...–45°C, досушивание проводят при положительной температуре 40–45°C. Продолжительность сушки суспензии на лотках 6–12 ч, во флаконах 24–42 ч. Сухую концентрированную закваску, высушенную на лотках, размельчают и фасуют в специальный многослойный полимерный материал. Сухая концентрированная закваска содержит от 150 до 300 млрд клеток в 1 г. Массовая доля влаги в сухой закваске не должна превышать 3,5%. Допускается наличие посторонней непатогенной микрофлоры не более 10 клеток в 1 г.

Продолжительность свертывания молока при внесении одной порции сухой концентрированной закваски на 1 дм<sup>3</sup> молока при оптимальной температуре составляет: у лактококков 4,0–5,5 ч, у термофильных молочнокислых стрептококков 3,0–4,5, у ацидофильных палочек 2,5–3,5 ч.

Срок хранения сухой концентрированной отечественной закваски при температуре 3–10°C составляет 8 мес. со дня выработки.

Сухие закваски, приготовленные без процесса концентрирования бактериальной массы, по составу микрофлоры идентичны сухой концентрированной закваске, но отличаются по количеству клеток молочнокислых бактерий. Сухие бактериальные закваски (неконцентрированные) содержат примерно в 100 раз меньше бактериальных клеток, чем сухие концентрированные закваски (закваски прямого внесения). Жидкие закваски готовят на стерильном обезжиренном или цельном молоке. Молоко стерилизуют в течение 10–15 мин при температуре 121°C, охлаждают до 37±1°C и для проверки на стерильность термостатируют при этой температуре в течение двух суток. Перед заквашиванием молоко контролируют микроскопированием окрашенного препарата. При просмотре не менее чем в 10 полях зрения микроскопа должны отсутствовать вегетативные клетки и споры.

После этого в молоко вносят комбинацию культур и выдерживают его при оптимальной температуре развития до образования сгустка. Закваску фасуют в стеклянные флаконы по 20, 50 и 100 см<sup>3</sup>, флаконы укупоривают и маркируют (этикетировывают). Жидкие закваски имеют срок годности 10 суток при 3–8°C и 5 суток при комнатной температуре хранения.

Закваска имеет жидкую консистенцию с небольшой крупкой, реже — сметанообразную. Допускается отделение сыворотки. Вкус и запах закваски кисломолочные, характерные для соответствующего вида, освежающие, без посторонних привкусов и запахов. Цвет белый с кремовым оттенком по всей массе. Допускается буроватый оттенок. Кислотность 80–100°Т. При микроскопии мазков из закваски должны отсутствовать инволюционные формы и посторонние микроорганизмы.

При производстве заквасок бактериальные клетки могут наращивать численность в периодическом режиме или в условиях непрерывного (проточного) культивирования.

При периодическом выращивании (в изолированной емкости) действующие на микроорганизмы многочисленные факторы меняются по ходу развития культуры. Вначале микроорганизмы размножаются в условиях избытка питательных веществ. Одновременно с этим в среде накапливаются продукты обмена. Они тормозят деятельность ферментов, участвующих в синтезе компонентов клеток. В соответствии с происходящими в среде изменениями культура сама претерпевает ряд закономерных морфобиохимических изменений. Так, например, клетки, образовавшиеся в начале культивирования, отличаются от клеток, выросших позднее. Это ведет к гетерогенности культуры.

Наращивание клеток в условиях непрерывного культивирования предусматривает постоянный приток питательной среды и одновременное удаление

продуктов жизнедеятельности. В результате этого микроорганизмы приобретают способность к продуктивному незатухающему во времени росту, что дает возможность получить более активную закваску, а также увеличить выход продукции с существующего оборудования.

Процесс получения натуральных кефирных грибков включает подготовку молока, культивирование кефирных грибков, отделение, фасование, укупоривание, маркирование и хранение. Для культивирования кефирных грибков используют обезжиренное молоко, пастеризованное при температуре 92–95°C в течение 20–30 мин, в которое помещают грибки в соотношении 1:20–1:40. Выращивание проводят при температуре 18–22°C. Ежедневно молоко меняют, т. е. грибки заливают свежими порциями питательной среды. Молоко, в котором культивировались кефирные грибки, представляет собой уже культуральную кефирную закваску (слив с кефирных грибков), содержащую почти ту же микрофлору, что и кефирный грибок.

По мере роста грибков 1–2 раза в неделю их отделяют от закваски, фасуют порциями в стерильные флаконы, заливают обезжиренным молоком или сывороткой. Срок хранения кефирных грибков составляет 7–10 дней при температуре 8–10°C.

Сухие кефирные грибки получают из натуральных (живых) кефирных грибков путем высушивания в защитной среде. На отечественных биофабриках чаще всего в качестве защитной среды применяют молочную сыворотку с добавлением 0,5% сахара и 0,01% аскорбиновой кислоты. Отделенные от культуральной закваски грибки помещают в защитную среду в соотношении 1 : 20 и выдерживают в ней 5–6 ч при температуре 20–22°C для наращивания дрожжей, которые являются наиболее чувствительными к замораживанию и высушиванию. После этого грибки отделяют от защитной среды, укладывают на стерильные лотки слоем 8 мм, закрывают стерильной марлей и помещают в морозильный шкаф при температуре –20...–25°C на 1,5–2 ч. Грибки сушат в установке сублимационной сушки. Температура в начале сушки 15–20°C, конечная температура досушивания 30–35°C. Продолжительность сушки 8–10 ч.

Сухие кефирные грибки фасуют порциями по 10, 20, 50, 100 г в пакеты из многослойного полимерного материала, например полиэтилен-целлофана, и запаивают. Срок хранения кефирных грибков составляет 3 мес. при температуре не выше 8°C. Сухие кефирные грибки содержат не более 4,5% влаги.

Продолжительность сквашивания молока при соотношении грибка и молока 1 : 40 и температуре 18–22°C для натуральных грибков составляет 16–18 ч, для сухих — 24–28 ч. Кислотность сгустка 90–110°Т. В микроскопическом препарате наблюдаются диплококки, короткие цепочки, единичные палочки и клетки дрожжей. При возникновении пороков кефирной закваски или разногласия в ее оценке проводят контроль качественного состава микрофлоры в соответствии с Технологической инструкцией по приготовлению и применению заквасок для кисломолочных продуктов.

## 7.4. ВЫДЕЛЕНИЕ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

При длительном хранении и культивировании биологические свойства заквасочной микрофлоры изменяются, поэтому необходимо постоянно производить замену (ротацию) заквасок. Для этого необходимо выделять чистые культуры с требуемыми свойствами и комбинировать их.

Основные этапы получения новых чистых культур для заквасок включают:

— выбор источников и отбор образцов;  
— обогащение — посев на жидкую питательную среду, культивирование в оптимальных условиях;

— выделение — посев на плотную питательную среду, отбор типичных выросших колоний чистых культур, их дифференциацию и идентификацию;

— исследование свойств и определение производственной и биологической ценности (пересев чистой культуры в стерильное молоко, проверка на эффективность кислотообразования и сквашивания, чувствительность к бактериофагам, стабильность сохранения свойств, резистентность и др.);

— коллекционирование ценных штаммов (желательно в сухой форме).

Из проверенных и отобранных ценных штаммов составляют коллекцию, пересев проводят не реже 1 раза в месяц, так как возможно снижение биохимической активности культур. В процессе пассажей постоянно проверяют чистоту (наличие посторонней микрофлоры), активность кислотообразования, биохимические и органолептические свойства. Возможно хранение чистых культур в замороженном при температуре  $-17...-25^{\circ}\text{C}$  состоянии в течение 4–6 мес. или в высушенном состоянии в течение нескольких лет.

Рассмотрим особенности выделения основных групп молочнокислых микроорганизмов.

Для выделения мезофильных гомоферментативных молочнокислых лактококков делают посев сырого молока, самоквасных продуктов или растений из местности с умеренным климатом в стерильное молоко, которое термостатируют при  $28-30^{\circ}\text{C}$ . Из пробирок, в которых образовался сгусток молока, проводят поверхностный посев на плотную среду АГМ, термостатируют при  $28-30^{\circ}\text{C}$ . Из всех выросших типичных колоний проводят посев в пробирки со стерильным обезжиренным молоком и их термостатирование. Проводят отбор пробирок, в которых молоко свернулось за 16–17 ч, готовят препараты и микроскопируют их, проверяя на чистоту. Затем проводится проверка на пригодность: 5% закваски должны свернуть молоко за 5–10 ч, при этом сгусток должен быть ровным, плотным, сметанообразной или колющейся консистенции, вкус чистый кисломолочный, без посторонних привкусов и запахов. Проводятся также тесты на бактериофаг, термоустойчивую палочку и др.

Выделение мезофильных гетероферментативных ароматообразующих молочнокислых кокков включает естественное сквашивание (в качестве исходного образца берут сырое молоко или помещают цветки растений в стерильное

молоко) при 25–27°C; пересев в стерильное обезжиренное молоко (ОМ) с добавлением цитрата натрия и дрожжевого автолизата (с витаминами и аминокислотами как факторов роста), термостатирование при 25–27°C; посев на плотную среду АГМ с малорастворимым цитратом кальция, термостатирование; отбор культур из колоний с осветленной зоной; посев в стерильное ОМ, сквашивание, проверку на пригодность: молоко должно свертываться за 16–17 ч и более, штамм должен быть устойчив к полифагу, проверяют органолептику сгустка, проводят тест на образование диацетила, ацетоина и углекислого газа.

При выделении термофильных молочнокислых стрептококков проводят естественное сквашивание при 42–45°C; пересев в стерильное молоко с 2% сахарозы, сквашивание при 42–45°C; поверхностный посев на АГМ с сахарозой, термостатирование при 42–45°C; пересев из типичных колоний в стерильное молоко, сквашивание при 42–45°C; отбор пробирок, в которых молоко свернулось быстрее чем за 16 ч; проверку на пригодность: 5% заквасочной культуры должны свертывать молоко за 3,5–5 ч, рост культуры в ГМ с 2% хлорида натрия.

Выделение термофильных молочнокислых палочек предусматривает естественное сквашивание при 40–45°C, пересев в стерильное ОМ и сквашивание при 40–42°C; глубинный посев на АГМ, термостатирование при 40–42°C; посев в ОМ из типичных глубинных колоний после микроскопирования; отбор пробирок, в которых молоко свернулось менее чем за 16 ч; проверку на пригодность: 5% закваски должны свертывать пастеризованное молоко за 2,5–4 ч, сгусток должен быть ровным, плотным, сметанообразной или колющейся консистенции, проверка на предельную кислотность.

## 7.5. ЭТАПЫ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЗАКВАСОК НА ПРЕДПРИЯТИИ

### 1. Отбор и подготовка молока.

Молоко должно быть высокого качества по всем показателям, ингибиторы должны отсутствовать. Предпочтительно использовать не цельное, а обезжиренное молоко. Для тепловой обработки молока используют стерилизацию (для лабораторной закваски при 121°C в течение 10–30 мин в зависимости от емкости тары, проверяют на стерильность путем термостатирования при 37°C 3 суток); или пастеризацию при 90–95°C в течение 20–30 мин, после чего проверяют эффективность пастеризации. После тепловой обработки молоко охлаждают до температуры сквашивания.

### 2. Сквашивание и охлаждение.

Флаконы с заквасками вскрывают с соблюдением правил стерильности непосредственно перед употреблением и полностью используют, соблюдая сроки хранения. Сухие закваски (концентрированные и неконцентрированные) растворяют в стерильном молоке или физрастворе, активизируют — вносят в 1 л пастеризованного молока и термостатируют 2–3 ч. Кефирные грибки восстанавливают, вносят в пастеризованное ОМ 1:40 на 20–24 ч, готовят грибко-

вую закваску, отделяют ее от грибков, готовят производственную закваску, 1–3% вносят в нормализованную смесь.

### **3. Контроль качества заквасок.**

Видовой состав и количество жизнеспособных клеток в заквасках регламентируются соответствующими техническими документами и гарантируются предприятием-изготовителем заквасок (биофабрикой).

В производстве используют следующие способы применения заквасок неконцентрированных (БЗ):

- предварительная активизация (получение лабораторной закваски) для последующего использования при приготовлении производственной закваски;
- приготовление производственной закваски.

В производстве используют следующие способы применения заквасок концентрированных (заквасок прямого внесения, БК):

- прямая инокуляция БК в молоко или смесь для выработки продукта;
- предварительная активизация БК для последующего внесения в молоко или смесь для выработки продукта;
- предварительная активизация для последующего использования при приготовлении производственной закваски;
- приготовление производственной закваски.

Безопасность и качество активизированных заквасок контролируют ежедневно в каждой партии.

Контроль активизированного БК осуществляют по следующим показателям:

- прирост титруемой кислотности за время активизации (2–3 ч) — в соответствии с технической документацией на используемый концентрат;
- микроскопический препарат — клетки бактерий в препарате должны располагаться равномерно, не содержать посторонней микрофлоры, в том числе дрожжей и плесневых грибов, и соответствовать виду закваски.

Результаты контроля записывают в журнал.

Контроль производственной закваски, приготовленной на молоке или специальной питательной среде из БК беспересадочным способом, осуществляют по следующим показателям:

- продолжительность сквашивания, ч;
- титруемая кислотность, °Т;
- активная кислотность (рН);
- газообразующая активность;
- ароматообразующая активность;
- микроскопический препарат;
- органолептическая оценка: вкус, цвет, запах, характер сгустка;
- БГКП.

Конкретные значения контролируемых показателей должны соответствовать требованиям технических документов на используемый БК и питательную среду. Например, в соответствии с Техническим регламентом Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013) в за-

квасках для кефира симбиотических жидких БГКП должны отсутствовать в 3 мл, *S. aureus* в 10 мл, патогенные, в том числе сальмонеллы — в 100 мл, плесени — не более 5 КОЕ/г.

При подозрении на бактериофаг проводят условный тест — посев на стерильное обезжиренное молоко с метиленовым синим. Если после обесцвечивания через 4–5 ч вновь наблюдается посинение — вероятно развитие бактериофага.

## ПРАВИЛА ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЗАКВАСОК НА ПРЕДПРИЯТИИ

1. Все работы проводятся в специальных отделениях чистых культур (на небольших предприятиях — в специально выделенных боксах или ламинарах), где не проводят микробиологические анализы, оборудованных термостатами, холодильниками, автоклавами и др.

2. Строгое соблюдение чистоты и стерильности, тамбур для переодевания, спецодежда.

3. Все закваски с дрожжами, плесенями готовят в отдельном помещении.

Минимально необходимое содержание жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов в заквасках на разных этапах технологического процесса производства ферментированных молочных продуктов представлено в таблице 7.1.

Таблица 7.1

### Минимально необходимое содержание жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов в заквасках

Этап технологического процесса	Содержание жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов, не менее
Сухая БЗ	$10^9$ КОЕ/БА или г
Сухой БК	$10^{10}$ КОЕ/БА или г
Активизированный БК	$10^7$ – $10^9$ КОЕ/см <sup>3</sup>
Производственная закваска	$10^9$ КОЕ/см <sup>3</sup>

## ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЕФИРНОЙ ЗАКВАСКИ

Молоко, применяемое для культивирования кефирных грибов и получения грибковой закваски, пастеризуют при 95°C с выдержкой 10–15 мин в специальных заквасочниках (в ушатах с крышками и мешалками) при непрерывном перемешивании. Все операции, связанные с культивированием кефирных грибов, проводят, соблюдая особую чистоту. Посуду и инвентарь, соприкасающиеся с грибами, тщательно протирают спиртом и обжигают.

Живые кефирные грибки помещают в пастеризованное и охлажденное (летом до 18–19°C, зимой до 20–22°C) молоко из расчета одна часть грибов на

20–40 частей молока. Через 15–16 ч тщательно перемешивают закваску вместе с грибочками.

В результате перемешивания кефирной закваски вместе с грибочками достигается более равномерное распределение продуктов обмена кефирных грибов по всему объему закваски, а также предотвращается ее плесневение. Без перемешивания грибки находятся в верхней части объема закваски, и здесь же концентрируются их продукты обмена. Перед перемешиванием закваски в каждой емкости мутовку моют, обтирают спиртом и обжигают. Через 5–6 ч закваску снова тщательно перемешивают и процеживают (например, сквозь алюминиевый дуршлаг или сито) в чистую емкость. Перед процеживанием закваски из каждого ушата мутовку, дуршлаг и другой мелкий инвентарь моют, протирают спиртом и обжигают. Грибки, оставшиеся на сите, помещают в свежее пастеризованное и охлажденное молоко, а сливы с кефирных грибов используют для приготовления производственной кефирной закваски, которую применяют для получения кефира.

По мере роста грибов 1–2 раза в неделю отделяют их излишки с таким расчетом, чтобы соотношение между количеством грибов и молока оставалось на уровне 1:20. С увеличением количества грибов наблюдается излишнее накопление продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, особенно кислоты, вследствие чего происходит подавление активных кислотообразователей (лактококков) и снижается активность закваски. В случае значительного уменьшения количества грибов по отношению к молоку против указанного замедляется сквашивание молока из-за недостаточного накопления продуктов жизнедеятельности микроорганизмов.

Для получения закваски с однородной микрофлорой большое значение имеет постоянный микробиологический и органолептический контроль грибов и закваски. Грибки контролируют по вкусу, запаху, внешнему виду; закваску — по вкусу, запаху, консистенции, кислотности, микроскопическому препарату и по бродильной пробе. Нормальные активные грибки имеют кислый, специфический вкус, упругую консистенцию, белый или слегка желтоватый цвет; при помещении в молоко всплывают на поверхность. Хорошая грибковая закваска обладает кислым, выраженным вкусом кефирных грибов и имеет жидкую пенистую консистенцию. Кислотность закваски колеблется в пределах 90–110°Т. В микроскопическом препарате грибковой кефирной закваски обнаруживают большое количество диплококков, коротких и длинных цепочек (лактококков) и не в каждом поле зрения — дрожжи и палочки, иногда в виде скоплений.

Посевы на питательную агаризованную среду (Сабуро, сусловый или картофельно-лактозный агар) показывают, что в 1 см<sup>3</sup> грибковой закваски содержится 10<sup>5</sup> клеток дрожжей, а в производственной — 10<sup>4</sup>–10<sup>5</sup>.

Микробиологические исследования показывают, что в результате промывки резко изменяется микрофлора кефирных грибов: с их поверхности удаляется значительная часть активных кислотообразователей (лактококков). Для восстановления нормальной микрофлоры грибов и закваски требуется не ме-

нее 2–3 дней, следовательно, принцип постоянства состава закваски при этом нарушается.

## 7.6. ПОРОКИ ЗАКВАСОК И МЕРЫ ИХ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Наиболее часто встречающиеся пороки заквасок (кроме кефирной) представлены в таблице 7.2.

Таблица 7.2

**Пороки заквасок, причины и меры их предупреждения**

Наименование	Причины	Меры предупреждения
1. Снижение активности закваски (несквашивание молока)	Наличие ингибиторов в молоке (антибиотики, моющие и нейтрализующие вещества). Заражение бактериофагом. Сезонные колебания состава молока (низкое содержание сухих веществ, лактозы и т. д.)	Проверка молока на антибиотики и ингибирующие вещества. Строгое соблюдение санитарии и гигиены, ротация заквасок, применение фагоустойчивых штаммов, асептические условия получения и применения заквасок. Повышение содержания сухих веществ
2. Наличие БГКП сверх установленной нормы	Несоблюдение режимов пастеризации молока, правил приготовления заквасок, гигиены и санитарии	Соблюдение правил, повышение кислотности закваски
3. Излишняя кислотность	Развитие термоустойчивой молочнокислой палочки	Соблюдение режимов пастеризации, мойки и дезинфекции оборудования
4. Вспучивание	Развитие дрожжей или спорообразующей микрофлоры	Разделение приготовления кефирной и остальных заквасок, использование активной закваски, смена закваски
5. Ослизнение, тягучесть	Развитие слизиобразующих штаммов	Смена закваски

Пороки кефирных грибков и грибковой закваски и меры их предупреждения рассмотрены ниже.

### 1. Наличие бактерий группы кишечных палочек.

Развитие этого порока при ежедневном контроле устанавливаются путем посева на среду Кесслер. Наличие бактерий этой группы в грибковой закваске чаще всего бывает следствием недостаточно тщательной пастеризации молока для грибков и закваски (плохое перемешивание во время пастеризации и выдержки, сокращение срока выдержки при заданной температуре). Этот порок

может возникнуть также при использовании загрязненной воды и при несоблюдении обслуживающим персоналом личной гигиены.

Для устранения указанного недостатка следует оставить закваску, в которой обнаружены бактерии группы кишечных палочек, на 1–2 суток и не менее 2 раз в сутки перемешивать закваску вместе с грибами. Конечная кислотность закваски после выдержки должна быть не ниже 120–140°Т. Кроме того, особое внимание уделяют пастеризации молока, личной гигиене работающих и проверяют водопроводную воду на наличие бактерий группы кишечных палочек. Закваску допускается использовать только после устранения данного недостатка.

## **2. Плесневение.**

Возбудителем плесневения кефирных грибков и закваски чаще всего является белая молочная плесень *Geotrichum candidum*. Развитие этого порока характеризуется следующими признаками: поверхность закваски вместе с грибами покрывается белым бархатистым налетом, при открывании крышки ушата отмечается резкий специфический запах, не свойственный нормальной кефирной закваске. При просмотре микроскопического препарата закваски обнаруживают клетки молочной плесени в виде крупных темноокрашенных члеников.

Молочная плесень хорошо растет на поверхности среды, в глубине продукта для нее создаются неблагоприятные анаэробные условия. Поэтому наиболее эффективная мера профилактики плесневения — это перемешивание грибков вместе с кефирной закваской не реже 2 раз в сутки при соблюдении санитарно-гигиенических требований, необходимых при культивировании кефирных грибков. Так как основным энергетическим материалом для развития молочной плесени является молочный жир, при культивировании кефирных грибков целесообразно применение обезжиренного молока.

## **3. Заражение посторонними дрожжами.**

В результате недостаточно тщательного культивирования кефирных грибков возможно обсеменение их посторонними, «дикими», дрожжами, придающими закваске не свойственные ей вкус и запах. В этом случае чаще всего появляется резко выраженный фруктовый аромат. При заражении грибков посторонними дрожжами рекомендуется грибки заменить новыми.

## **4. Ослизнение.**

Кефирные грибки ослизняются чаще всего летом в результате повышения температуры окружающего воздуха. Грибки становятся мягкими, теряют упругость, при надавливании из них выделяется прозрачная слизь. При этом закваска может приобрести тягучесть. Кефирные грибки ослизняются вследствие интенсивного развития уксуснокислых бактерий, в небольшом количестве всегда содержащихся в кефирном грибке.

Условия, способствующие чрезмерному развитию уксуснокислых бактерий и, как следствие этого, ослизнению кефирных грибков, следующие: культивирование грибков при температуре выше 22°С; длительное выдерживание грибков в закваске (редкая смена молока при культивировании грибков — через 2–4 дня); несвоевременное отделение грибков от закваски, в результате чего соотношение между грибами и молоком становится менее чем 1:20.

Основные трудности связаны с поддержанием необходимой температуры (18–20°C) в летнее время. Если нет возможности поддерживать постоянную температуру в помещении, рекомендуется снижать температуру пастеризованного молока, в которое помещают грибки, до 16–17°C.

#### 5. Снижение активности закваски.

При частой смене молока кефирные грибки быстро растут, в результате чего количество их удваивается за 7–10 дней. Если излишнее количество грибов своевременно не удаляют, закваска переквашивается, в результате чего изменяется состав микрофлоры и, следовательно, снижается активность закваски. Во избежание этого при культивировании кефирных грибов поддерживают соотношение между грибами и молоком 1:20–1:40, при котором грибки нормально развиваются и получается активная закваска. Отделенные кефирные грибки допускается резервировать не более месяца в пастеризованном охлажденном до температуры 4–6°C обезжиренном молоке, заменяя каждые 7 дней молоко.

## ВЫВОДЫ

1. Закваски (стартовые культуры) — культуры микроорганизмов, которые используют при изготовлении молочных продуктов, могут быть классифицированы по назначению, составу микрофлоры, взаимоотношениям между видами, концентрации клеток и консистенции.

2. К перспективным закваскам относятся концентрированные закваски (бакконцентраты, закваски прямого внесения), вносимые в нормализованную смесь для получения продукта, которые имеют высокую концентрацию жизнеспособных активных клеток ( $10^{11}$ – $10^{12}$  в 1 г) и обладают определенными экономическими и технологическими преимуществами.

3. Основные требования к традиционным закваскам — способность обеспечить качество и безопасность выпускаемой продукции; к пробиотическим закваскам — доказанный положительный эффект на здоровье человека.

4. При создании заквасок обязательно учитывается взаимодействие разных видов и штаммов, а также фагоустойчивость культур.

5. Промышленное производство заквасок предусматривает выращивание молочнокислых микроорганизмов в обогащенных питательных средах до максимального накопления биомассы; без или с концентрированием клеток; лиофильную сушку в защитной среде и фасовку.

6. Выделение чистых культур является первым этапом создания заквасок и включает выбор источников и отбор образцов; обогащение путем посева на жидкую питательную среду и культивирование в оптимальных условиях; посев на плотную питательную среду с последующим отбором и идентификацией типичных выросших колоний чистых культур; комплексное исследование свойств и определение производственной и биологической ценности.

7. Контроль производственной закваски осуществляют по показателям продолжительности сквашивания, титруемой и активной кислотности, газооб-

разующей и ароматообразующей активности, наличия БГКП, микроскопическому препарату и органолептической оценке.

8. Основные меры предупреждения пороков заквасок связаны с применением качественного молока без антибиотиков и ингибиторов, строгим соблюдением санитарии и гигиены, ротацией заквасок по определенным схемам, применением фагоустойчивых штаммов, соблюдением асептических условий получения и применения заквасок, разделением приготовления кефирной от других видов заквасок.

## ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

### БАЗОВЫЙ УРОВЕНЬ

1. Определение и классификация заквасок по назначению.
2. Классификация заквасок по составу микрофлоры и взаимоотношениям между видами.
3. Классификация заквасок по концентрации клеток.
4. Требования к традиционным закваскам.
5. Требования к пробиотическим закваскам.
6. Этапы создания заквасок.
7. Процессы промышленного производства заквасок.
8. Основные стадии выделения чистых культур заквасочных микроорганизмов.
9. Особенности выделения чистых культур мезофильных гомо- и гетероферментативных кокков.
10. Особенности выделения чистых культур термофильных стрептококков и палочек.
11. Требования к приготовлению заквасок на производстве.
12. Пороки заквасок, их причины и меры предупреждения.

### ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ

1. Преимущества и недостатки заквасок разных видов и форм.
2. Классификация заквасок, применяющаяся за рубежом.
3. Факторы, влияющие на активность заквасок.
4. Сравнительный анализ схем выделения чистых культур разных групп молочнокислых микроорганизмов.
5. Особенности культивирования кефирных грибков.
6. Пороки кефирных грибков и кефирной закваски и меры их предупреждения.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА И ИНТЕРНЕТ-ИСТОЧНИКИ

1. Банникова, Л. А. Микробиологические основы молочного производства : справочник / Л. А. Банникова, Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. — М. : Агропромиздат, 1987. — 400 с.
2. Ганина, В. И. Техническая микробиология продуктов животного происхождения : учебное пособие / В. И. Ганина, Н. С. Королева, С. А. Фильчакова. — М. : ДеЛи принт, 2008. — 352 с.
3. Гудков, А. В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты. — М. : ДеЛи принт, 2003. — 800 с.
4. Жарикова, Г. Г. Микробиология продовольственных товаров. Санитария и гигиена : учебник. — 3-е изд., стер. — М. : Академия, 2008. — 300 с.
5. Микробиология молока и молочных продуктов : лабораторный практикум / авт.-сост. С. А. Рябцева, Н. М. Панова. — Ставрополь : СКФУ, 2014. — 105 с.
6. Меркулова, Н. Г. Производственный контроль в молочной промышленности : практическое руководство / Н. Г. Меркулова, М. Ю. Меркулов, И. Ю. Меркулов. — СПб. : Профессия, 2009. — 653 с.
7. Мудрецова-Висс, К. А. Микробиология, санитария и гигиена : учебник / К. А. Мудрецова-Висс, В. П. Дедюхина. — М. : ФОРУМ : ИНФРА-М, 2009. — 400 с.
8. Современная пищевая микробиология / Д. М. Джей, М. Д. Лесснер, Д. А. Гольден. — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. — 886 с.
9. Степаненко, П. П. Микробиология молока и молочных продуктов : учебник. — Сергиев Посад : Все для Вас — Подмосковье, 2002. — 415 с. [http://mppnik.ru/load/molochnaja\\_promyshlennost/stepanenko\\_p\\_p\\_mikrobiologija\\_moloka\\_i\\_molochnykh\\_produktov/5-1-0-110](http://mppnik.ru/load/molochnaja_promyshlennost/stepanenko_p_p_mikrobiologija_moloka_i_molochnykh_produktov/5-1-0-110) — электронная версия учебника по микробиологии молока и молочных продуктов.
10. Степаненко, П. П. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии молока и молочных продуктов. — Воскресенск : Изд. дом «Лира», 2005. — 654 с.
11. Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013)// <http://docs.cntd.ru/document/499050562>.
12. [www.milkbranch.ru](http://www.milkbranch.ru) — портал журнала «Переработка молока».
13. [www.dairyunion.ru/](http://www.dairyunion.ru/) — сайт Молочного союза России.
14. <http://www.dairynews.ru> — новости молочного рынка каждый день.

## 8. МИКРОБИОЛОГИЯ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

### 8.1. ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ НАПРАВЛЕНИЕ РАЗВИТИЯ МИКРОФЛОРЫ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

1. **Жесткие режимы пастеризации.** Пастеризация молока осуществляется при более высоких температурах, чем при производстве питьевого молока (87–88°C в течение 10–20 мин или 90–95°C в течение 5–10 мин). Это способствует улучшению условий для развития молочнокислых микроорганизмов и формированию консистенции готовых продуктов за счет частичной денатурации сывороточных белков, удерживающих влагу. Исключение — творог, пастеризация молока проводится при 74–80°C в течение 20 с в зависимости от способа производства.

2. **Микрофлора закваски.** Основная роль в формировании качества продуктов принадлежит закваске, от состава которой зависят технологические режимы (температура и продолжительность сквашивания), свойства продукта — кислотность, консистенция, вкус, аромат и т. д.

3. **Посторонняя микрофлора** (термоустойчивая палочка, энтерококки, БГКП, бактериофаги). Возможно одновременное развитие посторонней микрофлоры и микрофлоры закваски. При этом посторонняя микрофлора может активизироваться или подавляться заквасочной микрофлорой, а может и подавлять ее.

4. **Интенсивность размножения** всей микрофлоры кисломолочных продуктов и конечное соотношение между ее представителями зависит от качества молока (содержание сухих веществ, кислотность, наличие антибиотиков и других ингибиторов), температуры и длительности сквашивания (и созревания), эффективности охлаждения (быстрота и конечная температура). В технической документации определены так называемые «критические контрольные точки», в которых необходимо контролировать технологический процесс, чтобы не допустить формирования пороков готовой продукции.

### 8.2. КЛАССИФИКАЦИЯ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Кисломолочные продукты можно условно разделить на несколько групп в зависимости от особенностей применяемых в производстве заквасок. Основные группы показаны на рисунке 8.1, характеристика групп представлена ниже.

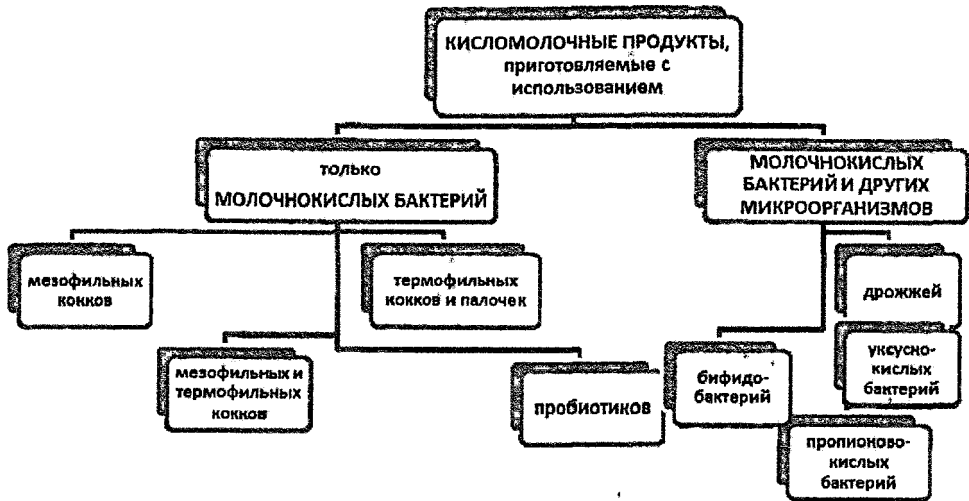


Рис. 8.1

Классификация кисломолочных продуктов по составу применяемой микрофлоры

1. Продукты, приготовляемые с использованием **мезофильных молочнокислых кокков** (сметана, творог и творожные изделия, простокваша). Состав закваски — *Lac. lactis*, *Lac. cremoris* (кислотообразователи), *Lac. lactis subsp. diacetylactis*, *Leu. lactis* (ароматообразователи). В сметане важна консистенция, поэтому используют капсулообразующие штаммы сливочного лактококка, после сквашивания проводят созревание для улучшения консистенции.

2. Продукты, приготовляемые с использованием **термофильных молочнокислых микроорганизмов** *Str. thermophilus* и *Lb. bulgaricus*: йогурт, простокваша «Южная», «Мечниковская», ряженка и варенец. Соотношение заквасочной микрофлоры регулируют температурой (стрептококк любит температуры не выше 40°C, болгарская палочка активизируется при более высоких температурах). Особенность технологии варенца и ряженки: топление молока (длительная выдержка 2–4 ч при температуре 92–95°C; в закваске обычно используется только термофильный стрептококк).

3. Продукты, приготовляемые с использованием **мезофильных и термофильных молочнокислых кокков** (сметана любительская и другие низкожирные виды, кисломолочные напитки пониженной жирности, творог, полученный ускоренным способом). Состав закваски: к мезофильной микрофлоре, применяющейся при производстве 2 группы продуктов, добавляют термофильный стрептококк:

- для повышения вязкости в низкожирных продуктах;
- для ускорения процесса сквашивания при производстве творога;
- для предупреждения несквашивания из-за сезонных изменений качества молока и развития бактериофага.

4. Продукты, приготовляемые с использованием **многокомпонентных заквасок и смешанного брожения** (кефир, кумыс, айран, мацун, мацони и др.). Состав симбиотической закваски для кефира: мезофильные лактококки (активные кислотообразователи), ароматообразующие лактококки (формируют аромат, вызывают газообразование), мезофильные и термофильные молочнокислые палочки (незначительное количество, влияют на кислотность), дрожжи (образование CO<sub>2</sub>, спирта), уксуснокислые бактерии (уксусная кислота, участвуют в формировании вкуса и консистенции кефира).

Особенностью технологии кефира является то, что после сквашивания, при котором происходит активное развитие лактококков (температура сквашивания 20–22°C, продолжительность сквашивания 10–12 ч, до кислотности 90–100°Т), обязательно проводят созревание кефира (при температуре 14–16°C в течение 12 ч). В процессе созревания происходит накопление ароматообразующих микроорганизмов, спирта, газа, уксусной кислоты.

Кумыс получают из кобыльего молока путем смешанного брожения (молочнокислое и спиртовое). В продукте больше сывороточных белков, витаминов, микроэлементов, благодаря чему он обладает лечебно-профилактическими свойствами.

Систематическое употребление простокваши, ряженки, кефира и других хорошо известных кисломолочных продуктов способствует нормализации кишечной микрофлоры, угнетает рост потенциально патогенных микроорганизмов, стимулирует иммунный ответ, нормализует моторику кишечника, увеличивает усвояемость молочного белка и лактозы, снижает риск возникновения злокачественных новообразований пищеварительного тракта и грудной железы. Однако для получения официального статуса продукта функционального питания его лечебно-профилактические свойства должны быть подтверждены многоэтапными научными исследованиями. В этом случае он может быть отнесен к следующей группе кисломолочных продуктов.

5. Пробиотические (био-) продукты, приготовляемые с использованием:

— **ацидофильных палочек** (ацидофильное молоко, «Ацидофилин», ацидофильно-дрожжевое молоко, ацидофильная паста). Закваска содержит разную микрофлору, но как обязательный компонент — *Lb. acidophilus* — сильный кислотообразователь, структурообразователь, который выделяет ряд антибиотических веществ; продукты обладают лечебно-профилактическими свойствами;

— **других молочнокислых палочек с доказанной пробиотической активностью**, например штаммов *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. fermentum* и др;

— **бифидобактерий** (кисломолочные напитки «Бифидок», «Бифидин», «Бифилайф», «Ацидобифидин», «Бифилак», сметана «Южная», сыры «Айболит», «Славянский» и др.). Обязательный компонент закваски — бактерии рода *Bifidobacterium* (чаще всего применяют *B. bifidum*, *B. adolescentis*, *B. longum*). Проблема применения бифидобактерий в молочной промышленности состоит в том, что они плохо развиваются в молоке, поэтому их вносят совместно с другой молочнокислой микрофлорой (ацидофильной палочкой — Ацидобифидин;

кефирной закваской — бифидок и др.), которая связывает растворенный кислород и образует бифидостимулирующие вещества. Бифидобактерии на первых этапах стимулируют развитие молочнокислых микроорганизмов, а после достижения фазы стационарного роста ингибируют у них кислотообразование, что предотвращает порок готового продукта — перекисание. Можно также использовать специальные штаммы бифидобактерий, которые адаптированы к молоку, или добавлять вещества, стимулирующие их рост в молоке. Известно также применение пропионовокислых бактерий для стимулирования роста бифидобактерий (например, кисломолочный продукт «Целебный»).

Технологически возможны два пути производства кисломолочных продуктов с бифидобактериями:

— создание продукта, содержащего монокультуру бифидобактерий (чаще используется одно-, двух- и трехштабмовые композиции), при этом количество клеток в готовом продукте достигает сотен миллионов и миллиардов на 1 г;

— создание продуктов путем обогащения их бифидобактериями, которое может проводиться жидкой культурой, выращенной на стерильном молоке с ростовыми веществами, или бактериальными концентратами бифидобактерий, вносимыми в молоко в момент заквашивания одновременно с молочнокислыми бактериями.

Совместное культивирование бифидобактерий с молочнокислыми бактериями в молоке имеет ряд преимуществ. Молочнокислые бактерии связывают растворенный в молоке кислород и тем самым создают анаэробные условия, благоприятные для роста бифидобактерий; протеолитически активные штаммы лактобактерий расщепляют казеин с образованием бифидогенных факторов: пептидов и аминокислот. Кроме того, за счет продуцирования большого количества уксусной кислоты бифидобактерии сообщают продукту несколько нетипичные вкус и запах, не свойственные традиционным молочнокислым продуктам. Напротив, совместное культивирование лакто- и бифидобактерий стимулирует накопление продуктов метаболизма: органических и летучих кислот, ацетальдегида, диацетила, что способствует улучшению органолептических показателей продукта. Более быстрое снижение значения pH при смешанном брожении снижает риск контаминации продукта посторонней микрофлорой.

Использование бифидобактерий в ассоциации с молочнокислыми культурами в качестве закваски для кисломолочных продуктов позволяет формировать в продукте высокую антагонистическую активность против возбудителей желудочно-кишечных заболеваний и придает продукту повышенную биологическую активность. Антагонистическая активность лактобактерий обусловлена продукцией бактериоцинов, лизоцима, органических кислот, перекиси водорода, а также конкуренцией за сайты прикрепления на слизистой оболочке различных отделов желудочно-кишечного тракта, кроме того, антимикробным действием обладают специфические продукты обмена этих бактерий, идентифицированные как полипептидные соединения.

Наиболее часто бифидобактерии культивируют в молоке совместно с *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Lactococcus diacetylactis*, *Streptococcus*

*thermophilus*, *Leuconostoc spp.*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacterium plantarum*, *Lactobacterium casei*, *Lactobacterium ferment* и др.

Для обеспечения положительного эффекта на здоровье пробиотические бактерии должны обладать способностью развиваться в молоке, а также сохраняться в продукте в необходимом количестве. Минимальное содержание пробиотических микроорганизмов в пище должно быть не менее  $10^6$ , или их ежедневное потребление — не менее  $10^9$ . Столь высокие показатели были установлены, чтобы компенсировать гибель пробиотических микроорганизмов во время их прохождения через желудок и кишечник.

Жизнеспособность пробиотических бактерий в кисломолочных продуктах зависит от используемых штаммов, взаимодействия между присутствующими в закваске видами, от наличия питательных веществ, ускоряющих и замедляющих рост, концентрации сахара, от дозы закваски, продолжительности сквашивания и кислотности продукта, а также от концентрации растворенного кислорода и кислорода, проникающего через упаковку (особенно для *Bifidobacterium spp.*). Бифидобактерии в природе являются анаэробами, поэтому высокое содержание кислорода может оказать влияние на их рост и жизнеспособность. *Lb. acidophilus* более устойчив к кислым условиям, чем *Bifidobacterium spp.*, рост последних значительно снижается при значении рН менее 5.

### 8.3. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОИЗВОДСТВА КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Отличительной особенностью процессов производства кисломолочных продуктов является превалирующее значение биологического фактора. В зависимости от вида продукта в ходе технологической переработки молока есть стадии развития, подавления или стабилизации жизнедеятельности микроорганизмов. Влияние технологических операций на микробиологические показатели кисломолочных продуктов показано в таблице 8.1.

Таблица 8.1

**Влияние технологических операций на микробиологические показатели кисломолочных продуктов**

№	Название процесса, операции	Влияние на микробиологические показатели продуктов
1	Приемка и оценка качества молока	Проверка кислотности, общей микробной обсемененности (соответствие нормам), наличия антибиотиков и других ингибиторов
2	Очистка (центрифугирование)	Удаление части микроорганизмов с частичками грязи, но общее количество высеваемых микробов может увеличиться за счет дробления их скоплений.

№	Название процесса, операции	Влияние на микробиологические показатели продуктов
3	Промежуточное резервирование	Дополнительное обсеменение при несоблюдении режимов мойки и дезинфекции, при длительном хранении при низких температурах возможно развитие психрофильной микрофлоры
4	Нормализация	Дополнительное обсеменение
5	Гомогенизация	Дополнительное обсеменение
6	Пастеризация: 85–87°C: 5–10 мин 90–95°C: 2–3 мин 90–95°C: 4–6 ч (ряженка) 74–80°C: 15–20 с (творог)	Уничтожение основной части микрофлоры (вегетативных форм; пастеризация эффективна, если осталось не более 0,01% исходной микрофлоры), может остаться термоустойчивая палочка и энтерококки, а также споровые формы
7	Охлаждение до температуры заквашивания	При нарушении технологии возможно развитие остаточной микрофлоры
8	Заквашивание (при температурах, оптимальных для данной закваски — 20, 30, 42°C или др.)	Внесение микрофлоры закваски; при низком качестве закваски и не соблюдении санитарно-гигиенических условий возможно обсеменение посторонней микрофлорой, в том числе БГКП и термоустойчивой палочкой
9	Скваживание (6–12 ч) до определенной кислотности	Размножение микрофлоры закваски, преобладают активные кислотообразователи; накапливающаяся молочная кислота замедляет развитие БГКП, споровых, гнилостных бактерий; возможно развитие посторонней микрофлоры, если кислотность нарастает очень медленно
10	Перемешивание, охлаждение	Снижается интенсивность микробиологических процессов, кислотность продолжает медленно нарастать
11	Для некоторых — созревание	Для кефира — развитие дрожжей, ароматообразующих бактерий и уксуснокислых бактерий, для сметаны — формирование консистенции
12	Для творога разрезание сгустка, отделение сыворотки, самопрессование сгустка	Возможно развитие посторонней микрофлоры, в том числе БГКП, термоустойчивой палочки, вызывающей порок перекисания, попадание дрожжей и плесеней из воздуха и с оборудования
13	Розлив (фасование)	Вторичное обсеменение продукта с оборудования, упаковочных материалов, тары и т. д.
14	Охлаждение, хранение и реализация	Медленное развитие микроорганизмов закваски, при хранении возможно развитие посторонней микрофлоры

## 8.4. ПОРОКИ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ И МЕРЫ ИХ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Пороки кисломолочных продуктов обусловлены развитием посторонней микрофлоры, что связано как с недостаточной активностью заквасок, так и с развитием остаточного и вторичного обсеменения микрофлоры пастеризованного молока. В таблице 8.2 приведены пороки кисломолочных продуктов, причины их возникновения и способы предупреждения.

*Таблица 8.2*

**Пороки кисломолочных продуктов**

№	Название	Причина	Способ предупреждения
1	Наличие БГКП (сверх нормы)	Обсеменение с оборудования, рук, из закваски и т. д.	Строгое соблюдение санитарии и гигиены, в том числе тщательная мойка и дезинфекция оборудования, трубопроводов, рук работников, контроль заквасок
2	Несквашивание, медленное сквашивание	Низкая активность закваски, антибиотики и другие ингибиторы в молоке, сезонные колебания состава молока	Соблюдение правил приготовления и хранения закваски, контроль закваски на чувствительность к фагам, проверка молока на антибиотики и другие ингибиторы, контроль состава молока
3	Слишком быстрое сквашивание, переокисление	Интенсивное развитие термостойких молочнокислых палочек	Тщательная мойка и дезинфекция оборудования
4	Образование глазков, сброженного сгустка, вспучивание	Развитие дрожжей (реже ароматообразующих микроорганизмов, в кефире — излишнее развитие дрожжей)	Предотвращение обсеменения дрожжами (раздельные заквасочные отделения для кефирной закваски, проверка сахара и других наполнителей), для кефира снижение температуры сквашивания
5	Невыраженный вкус	Слабое развитие ароматообразующих микроорганизмов	Правильный подбор соотношения микроорганизмов разных видов, контроль на бактериофагию
6	Жидкая консистенция	Недостаток микроорганизмов, формирующих консистенцию; не проведен процесс созревания	Правильный подбор заквасок, соблюдение режимов созревания
7	Тягучесть, резкий вкус и запах	Возможно развитие уксуснокислых палочек	Предотвращение обсеменения
8	Плесневение поверхности, прогоркание	Обсеменение спорами плесеней с оборудования, из закваски, воздуха	Мойка и дезинфекция оборудования. Контроль заквасок и воздуха

## 8.5. КОНТРОЛЬ ПРОИЗВОДСТВА КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

К основным критическим контрольным точкам при производстве жидких кисломолочных продуктов из молока и сливок относятся: сырье, пастеризация, закваска, сквашивание, термизация (для сквашенных продуктов), фасование, готовый продукт, хранение. Процесс сквашивания является важной критической контрольной точкой. Состав заквасочной микрофлоры, дозы и способы внесения, а также режимы культивирования определяются соответствующими техническими документами на конкретный вид продукта.

Для нормального протекания микробиологических и биохимических процессов при выработке большинства кисломолочных продуктов количество жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов в исходной смеси должно быть не менее  $10^6$  КОЕ/см<sup>3</sup>.

Количество жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов в готовом продукте должно превышать их количество, нормируемое на конец срока годности, так как в процессе хранения продукта происходит снижение жизнеспособных клеток за счет их отмирания. Скорость отмирания зависит от вида заквасочной микрофлоры, температуры хранения продукта, значений pH, способа упаковки и вида применяемого упаковочного материала, сроков годности. Особенно интенсивно снижается количество бифидобактерий в пробиотических продуктах.

**Термизация** сквашенных продуктов проводится при  $64 \pm 4^\circ\text{C}$  с выдержкой до 30 с с целью пролонгации сроков годности продуктов. В результате процесса термизации снижается уровень вегетативных микроорганизмов, в том числе заквасочных. Конечное количество заквасочной микрофлоры в термизированных молочных продуктах не нормируется.

**Готовый продукт.** Микробиологические показатели, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля кисломолочных продуктов из молока и сливок, которые контролируют в условиях производственной лаборатории, представлены в таблице 8.3.

Таблица 8.3

**Микробиологические показатели жидких кисломолочных продуктов  
из молока и сливок**

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
<b>Продукты кисломолочные жидкие, со сроками годности не более 72 ч, без компонентов и с компонентами</b>		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/см <sup>3</sup> , не менее	$10^7$	Не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см <sup>3</sup>	0,01	В каждой партии

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
<b>Продукты кисломолочные жидкие, со сроками годности более 72 ч, без компонентов</b>		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/см <sup>3</sup> , не менее	10 <sup>7</sup>	Не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см <sup>3</sup>	0,1	В каждой партии
Плесневые грибы, КОЕ/см <sup>3</sup> , не более	50	Не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/см <sup>3</sup> , не более	50*	В каждой партии
<b>Продукты кисломолочные жидкие, со сроками годности более 72 ч, с компонентами</b>		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/см <sup>3</sup> , не менее	10 <sup>7</sup>	Не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см <sup>3</sup>	0,01	В каждой партии
Плесневые грибы, КОЕ/см <sup>3</sup> , не более	50	Не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/см <sup>3</sup> , не более	50**	В каждой партии
<b>Продукты кисломолочные жидкие, со сроками годности более 72 ч, обогащенные бифидобактериями и другими пробиотическими микроорганизмами</b>		
Бифидобактерии и/или другие пробиотические микроорганизмы, КОЕ/см <sup>3</sup> , не менее	1-10 <sup>6</sup> в сумме	В каждой партии
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см <sup>3</sup>	0,1	В каждой партии
Плесневые грибы, КОЕ/см <sup>3</sup> , не более	50	Не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/см <sup>3</sup> , не более	50**	В каждой партии
<b>Термизированные сквашенные молочные и молочные составные продукты, в том числе без компонентов и с компонентами</b>		
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см <sup>3</sup>	1,0	В каждой партии
Плесневые грибы, КОЕ/см <sup>3</sup> , не более	50	Не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/см <sup>3</sup> , не более	50	В каждой партии

\* Наличие дрожжей на конец срока годности, не менее: для айрана и кефира —  $1-10^4$  КОЕ/см<sup>3</sup>; для кумыса —  $1-10^5$  КОЕ/см<sup>3</sup>.

\*\* Кроме напитков, изготавливаемых с использованием заквасок, содержащих дрожжи.  
*Примечания.* 1. При превышении норм содержания БГКП переходят на их усиленный контроль в каждой партии.  
 2. При необходимости возможно повышение периодичности контроля кисломолочных продуктов, вырабатываемых в открытых системах за счет снижения частоты контроля микроорганизмов закваски, БГКП — в термизированных продуктах, КМА-ФАНМ — в продуктах асептического разлива.

**Хранение.** Жидкие кисломолочные продукты из молока и сливок должны храниться при температуре  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ .

## ВЫВОДЫ

1. При производстве кисломолочных продуктов первостепенная роль отводится составу заквасочной микрофлоры, созданию оптимальных условий для её культивирования. Состав закваски лежит в основе классификации кисломолочных продуктов.

2. В зависимости от вида кисломолочного продукта в ходе технологической переработки молока есть стадии развития, подавления или стабилизации жизнедеятельности микроорганизмов.

3. К основным критическим контрольным точкам при производстве жидких кисломолочных продуктов из молока и сливок относятся: сырьё, пастеризация, закваска, сквашивание, термизация (для сквашенных продуктов), фасование, готовый продукт, хранение. Процесс сквашивания является важной критической контрольной точкой.

4. Пороки кисломолочных продуктов обусловлены развитием посторонней микрофлоры, что связано как с недостаточной активностью заквасок, так и с развитием остаточной и вторичного обсеменения микрофлоры пастеризованного молока.

## ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

### БАЗОВЫЙ УРОВЕНЬ

1. Назовите особенности микробиологических процессов при выработке кисломолочных продуктов.

2. Что лежит в основе классификации кисломолочных продуктов?

3. Какие продукты вырабатывают с использованием многокомпонентных симбиотических заквасок?

4. Какие продукты вырабатывают с использованием закваски мезофильных молочнокислых кокков? Состав заквасочной микрофлоры.

5. Какие продукты вырабатывают с использованием закваски термофильных молочнокислых микроорганизмов? Состав заквасочной микрофлоры.

6. Какие продукты вырабатывают с использованием закваски мезофильных и термофильных молочнокислых кокков?

7. Какие продукты вырабатывают с использованием закваски ацидофильной палочки?

8. Какие продукты вырабатывают с использованием бифидобактерий?

9. Назовите критические контрольные точки при производстве кисломолочных продуктов.

## ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ

1. Почему при производстве кисломолочных продуктов применяют жесткие режимы пастеризации?
2. Какие факторы влияют на интенсивность размножения микрофлоры кисломолочных продуктов?
3. Особенность технологии кефира.
4. Для чего в состав закваски, состоящей из мезофильной микрофлоры, применяющейся при производстве 2 группы кисломолочных продуктов, добавляют термофильный стрептококк?
5. Назовите пути производства кисломолочных продуктов с бифидобактериями.
6. Как влияют технологические операции на микробиологические показатели кисломолочных продуктов?
7. Какое количество жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов должно быть в исходной смеси и почему?
8. Назовите основные пороки кисломолочных продуктов и меры их предупреждения.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА И ИНТЕРНЕТ-ИСТОЧНИКИ

1. Банникова, Л. А. Микробиологические основы молочного производства : справочник / Л. А. Банникова, Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. — М. : Агропромиздат, 1987. — 400 с.
2. Билетова, Н. В. Санитарная микробиология / Н. В. Билетова, Р. П. Корнелаева, Л. Г. Кострикина [и др.]. — М. : Пищевая промышленность, 1980. — 352 с.
3. Ганина, В. И. Техническая микробиология продуктов животного происхождения : учебное пособие / В. И. Ганина, Н. С. Королева, С. А. Фильчакова. — М. : ДеЛи принт, 2008. — 352 с.
4. Ганина, В. И. Микробиологический контроль сырого молока // Молочная промышленность. — № 2. — 2010. — С. 12, 13.
5. Ганина, В. И. Производственный контроль молочной продукции : учебник / В. И. Ганина, Л. А. Борисова, В. В. Морозова. — М. : ИНФРА-М, 2016. — 248 с.
6. Дегтерев, Г. П. Производство качественного и безопасного молока-сырья / Г. П. Дегтерев, К. А. Тимирязева, А. И. Остроухов // Переработка молока. — № 4. — 2013.
7. Королева, Н. С. Санитарная микробиология молока и молочных продуктов / Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. — М. : Пищевая промышленность, 1980. — 256 с.
8. Литвина, Л. А. Микробиология молока : учеб.-метод. пособие / Л. А. Литвина, В. Г. Горских, И. Ю. Анфилофьева. — Новосибирск : Изд-во НГАУ, 2012. — 112 с.

9. Свириденко, Г. М. Анализ основных положений определяемых ТР ТС относительно норм безопасности молока и молочных продуктов // Переработка молока. — № 11. — 2004. — С. 6–10.

10. Семенихина, В. Ф. К вопросу о производстве кисломолочных пробиотических продуктов / В. Ф. Семенихина, И. В. Рожкова, А. В. Бегунова // Переработка молока. — № 5. — 2009. — С. 22–24.

11. Степаненко, П. П. Микробиология молока и молочных продуктов : учебник. — Сергиев Посад : Все для Вас — Подмосковье, 2002. — 415 с. // [http://mppnik.ru/load/molochnaja\\_promyshlennost/stepanenko\\_p\\_p\\_mikrobiologija\\_moloka\\_i\\_molochnykh\\_produktoov/5-1-0-110](http://mppnik.ru/load/molochnaja_promyshlennost/stepanenko_p_p_mikrobiologija_moloka_i_molochnykh_produktoov/5-1-0-110).

## 9. МИКРОБИОЛОГИЯ СЫРА

### 9.1. ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ СЫРА И ИСТОЧНИКИ ЕГО МИКРОФЛОРЫ

К основным особенностям микробиологических процессов при получении сыров можно отнести следующие.

1. В производстве сыра большую роль играет не только микрофлора закваски, но и микрофлора сырого молока, которая может участвовать в созревании сыров и вызывать их порчу.

2. Сыр является более благоприятной средой для развития микроорганизмов, чем масло, но менее благоприятной, чем молоко, так как имеет другое соотношение белка и углеводов. Поэтому при созревании получают преимущественно микроорганизмы, способные усваивать белок и продукты его распада как источник энергии.

3. Распад белка сопровождается образованием щелочных продуктов, которые нейтрализуют накапливающуюся молочную кислоту, т. е. обладают буферными свойствами. Это способствует дальнейшему развитию молочнокислых лактококков (до 200–300°Т, хотя в молоке предельная кислотность 120°Т).

4. При отделении сыворотки 3/4 микрофлоры остается в сырном зерне, 1/4 переходит в сыворотку (причина — при переходе белка из состояния золя в гель на нем адсорбируются любые посторонние частицы).

Поступление первичной микрофлоры в сыр из внешних источников ограничено коротким периодом: от получения молока на ферме до формирования головки сыра на предприятии. Только мягкие сыры, созревающие с участием плесени и/или поверхностной слизи, отличаются от других сыров тем, что на их поверхности развиваются плесени, дрожжи и бактерии — уже после формирования.

Основные источники формирования микрофлоры сыров показаны на рисунке 9.1.

**Сыропригодность молока** — это комплекс органолептических, физико-химических и микробиологических свойств, определяющих его способность к свертыванию, образованию сгустка надлежащей плотности, и возможность получения сыра с определенными качественными характеристиками. Такое молоко является благоприятной средой для развития молочнокислых бактерий и накопления ферментов, участвующих в созревании сыра. Факторы, влияющие на сыропригодность молока: химический состав молока, ингибирующие вещества, зоотехнические факторы.

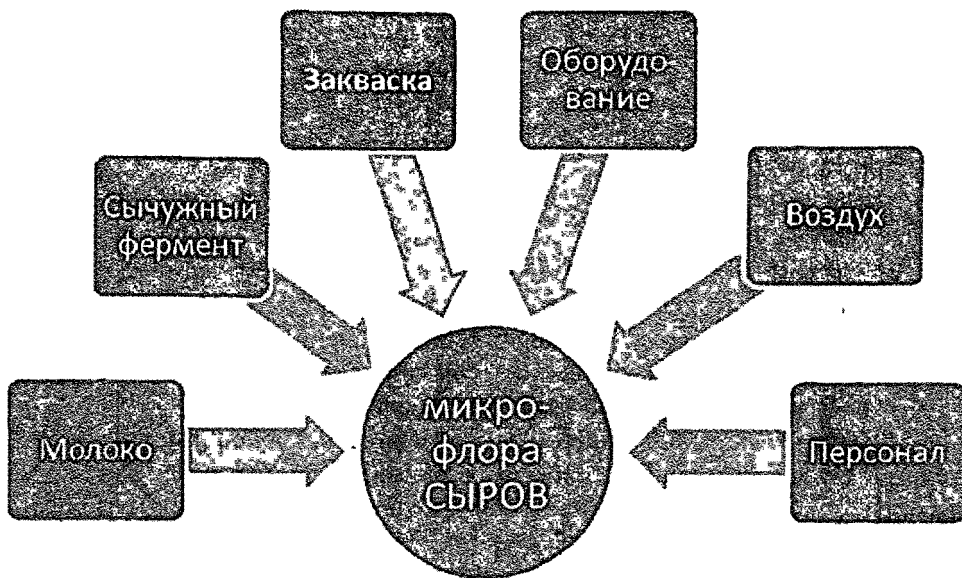


Рис. 9.1  
Источники формирования микрофлоры сыров

Молоко должно быть высокого качества, без примеси маститного молока, антибиотиков и других ингибиторов. Отрицательное влияние на качество сыра оказывает наличие в молоке значительного количества нежелательных бактерий: гнилостных, микрококков, маммококков, бактерий группы кишечных палочек, маслянокислых. Для сыроделия важен качественный состав первичной микрофлоры, особенно газообразующей (кишечной палочки и маслянокислых бактерий), содержание которых в молоке вызывает образование пороков в сыре при его созревании:

- *раннее всучивание* вызывается кишечной палочкой;
- *позднее всучивание* — маслянокислыми бактериями, которые особенно опасны, так как их споры не погибают при пастеризации.

Кроме стандартных анализов молока сырого на общую бактериальную обсемененность, антибиотики и другие ингибиторы в сыроделии проводят сычужную, бродильную или сычужно-бродильную пробы, а также определяют наличие спор маслянокислых бактерий.

По результатам *бродильной пробы*, проводимой при температуре 38–40°C, судят о характере сгустка, полученного при самопроизвольном скисании молока. Молочнокислые бактерии через 12 и 24 ч образуют ровный плотный сгусток. Хлопьевидный вспученный сгусток с выделением мутной сыворотки свидетельствует о наличии в молоке посторонней газообразующей (в основном кишечной палочки) микрофлоры. Если произошла пептонизация, то в молоке присутствуют гнилостные бактерии и микрококки (молоко не пригодно для сыроделия).

*Сычужно-бродильная проба* характеризует качественный состав микрофлоры молока (гигиенические условия его производства) и отношение молока к сычужному ферменту. Молоко, сыропригодное и доброкачественное по микрофлоре, свертывается через 20–25 мин, а через 12 ч образует однородный плотный сгусток, окруженный прозрачной сывороткой.

Наличие в молоке *маслянокислых бактерий* оценивают аналогично, только молоко перед проведением пробы пастеризуют при температуре 93–95°C в течение 30–40 мин, охлаждают до 35–40°C и выдерживают в термостате не менее 36 ч. Споровые маслянокислые бактерии переносят высокую температуру и образуют рваный сгусток со значительным выделением сыворотки. Можно также определять наличие маслянокислых бактерий посевом молока в селективную питательную среду, которую заливают парафином.

**Сычужный фермент** содержит преимущественно споры гнилостных бактерий. Общая микробная обсемененность фермента не превышает  $10^5$  КОЕ в 1 г, что в пересчете на  $1 \text{ см}^3$  заквашенного молока составляет не более 2–3 клеток.

**Закваска** является главным источником микрофлоры сыра, так как количество заквасочных микроорганизмов, вносимых с закваской, достигает миллионы или десятки миллионов в  $1 \text{ см}^3$  молока. При производстве сыров принимают участие ферментные системы мезофильных и/или термофильных молочнокислых бактерий, обладающих протеолитическими и липолитическими свойствами. При производстве твердых сыров в высокой температурой второго нагревания в состав закваски вводят пропионовокислые бактерии, которые в процессе брожения образуют пропионовую и уксусную кислоты (улучшают вкус сыра), диоксид углерода (участвует в образовании глазков в сыре). Кроме того, пропионовокислые бактерии являются активными продуцентами витамина В<sub>12</sub>, что позволяет обогатить сыр этим витамином.

За рубежом в качестве заквасочных культур применяют некоторые штаммы энтерококков, которые расщепляют белок и оказывают влияние на качественный состав свободных аминокислот в сыре. В последнее время ведутся работы по использованию бифидобактерий в производстве сыров. Такие сыры обладают выраженным лечебно-профилактическим действием.

При нарушении правил санитарии и гигиены возможно микробное обсеменение сыра через **воду, воздух, оборудование, одежду и руки персонала**. Эта микрофлора представляет серьезную опасность, так как попадает в молоко или сырную массу после тепловой обработки и в процессе выработки сыра не обезвреживается. В состав данной микрофлоры могут входить бактерии группы кишечных палочек, энтеротоксигенные стафилококки, сальмонеллы и другие опасные микробы.

## 9.2. ПУТИ СНИЖЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ОБСЕМЕНЕННОСТИ МОЛОКА В СЫРОДЕЛИИ

**Бактофугирование.** Для бактериальной очистки молока от вегетативных клеток спорообразующих бактерий, термофильных микроорганизмов, лейкоцитов, спор маслянокислых бактерий используют бактофугирование молока, которое с последующей его пастеризацией снижает содержание общего количества бактерий до 99,97% от их первоначального количества.

**Перекисно-каталазная обработка.** Этой обработке подвергают молоко с высоким содержанием спор маслянокислых бактерий, с целью подавления их развития в сыре. Обработку молока проводят непосредственно в сыродельной ванне (сыроизготовителе) перед внесением в него хлористого кальция и закваски. Сначала молоко обрабатывают пероксидом водорода, который действует губительно на маслянокислые бактерии, являясь сильнейшим клеточным ядом. Затем в молоко добавляют фермент каталазу для разрушения неиспользованного пероксида водорода, который под действием каталазы распадается на воду и молекулярный кислород.

**Внесение в молоко калия или натрия азотнокислого.** Для подавления развития вредной газообразующей микрофлоры (бактерий группы кишечных палочек и маслянокислых бактерий) в случае необходимости в молоко допускается вносить раствор калия и натрия азотнокислого. Азотнокислые соли, являясь нестойкими химическими соединениями, в молоке восстанавливаются, теряя кислород и превращаясь в нитриты. Кишечная палочка при наличии в среде молекул кислорода не образует углекислоту, водород и другие продукты распада лактозы, способствующие вспучиванию сыров. На молочнокислые бактерии нитриты действуют в значительно меньшей степени, не препятствуя накоплению молочной кислоты, которая также угнетает газообразующие бактерии.

В сыре нитриты разлагаются, восстанавливаясь до аммиака. Поэтому внесение азотнокислых солей калия или натрия в количествах 15–20 г на 100 см<sup>3</sup> молока не вызывает пороков в готовом продукте.

**Пастеризация.** Главная цель пастеризации — снижение содержания в молоке патогенных и технически вредных микроорганизмов до уровня, при котором они при последующем ходе технологического процесса не могут нанести ущерб качеству готового продукта. При этом следует учитывать, что условием, ограничивающим параметры пастеризации, является максимальное сохранение состава и физико-химических свойств молока, оказывающих влияние на выход и качество сыра. В сыроделии приняты режимы пастеризации:

— 71–72°C с выдержкой 20–25 с — для сыров с высокой температурой второго нагревания;

— 74–76°C с выдержкой 20–25 с — для сыров с низкой температурой второго нагревания и в случае высокой бактериальной обсемененности молока-сырья;

— 85°C в течение 10–40 мин; 98°C в течение 0,5–2,0 мин; или 140°C в течение 2–8 с — для кисломолочных сыров.

### 9.3. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ВЫРАБОТКЕ СЫРА

Технологический процесс выработки сыров состоит из следующих операций: созревание молока, образование сгустка под действием молокосвертывающего фермента и закваски; обработка сгустка; формование и прессование сырной массы; посолка; созревание сыра. Правильный выбор технологических параметров (разная степень зрелости молока, температура свертывания и второго нагревания, размеры сырного зерна, степень обезвоживания сырной массы, условия созревания сыра) важен для создания оптимальных условий развития определенных групп микроорганизмов.

**Микробиологические процессы при созревании молока.** Свежевыдоенное молоко нельзя направлять на выработку сыра. Оно, находясь в бактерицидной фазе, представляет собой неблагоприятную среду для развития молочнокислых бактерий, плохо свертывается ферментом, образует дряблый, плохо выделяющий сыворотку сгусток, что снижает выход сыра и ухудшает его качество. Плохое свертывание молока ферментом объясняется тем, что в свежем молоке соли кальция находятся преимущественно в нерастворенном состоянии и связаны с белковыми частицами, а это снижает коагуляционную способность молока.

Цель созревания молока — улучшение его свойств как среды для действия заквасочной микрофлоры и молокосвертывающего фермента. В процессе созревания изменяются физико-химические и технологические свойства молока:

- инактивируются природные антибактериальные системы молока;
- увеличивается количество растворимых азотистых веществ за счет гидролиза части белков;
- укрупняются мицеллы казеина;
- снижается окислительно-восстановительный потенциал;
- часть нерастворимых кальциевых солей переходит в растворимое состояние и т. д.

Значительную роль в созревании молока играет микрофлора, что и отличает созревание от резервирования. Кислотность молока в процессе созревания должна повыситься на 1–2°Т для твердых сыров и на 3–4°Т для рассольных.

В России оптимальным режимом созревания молока в сыроделии является выдержка его при температуре 10±2°C в течение 14±2 ч с добавлением или без добавления закваски молочнокислых бактерий. За рубежом температуру со-

зревания повышают до 12–15°C и молоко выдерживают при этой температуре до 24 ч. Не допускается направлять на созревание молоко кислотностью более 20°Т.

Наиболее целесообразно на созревание направлять предварительно пастеризованное и охлажденное до 8–10°C молоко с обязательным внесением в него 0,1–0,3% бактериальной закваски. Для предотвращения развития бактериофага при созревании молока рекомендуется использовать бактериальную закваску иной партии и иного состава, чем при производстве сыра. Используют обычную лактококковую или специальную закваску, обладающую специфическим антагонистическим действием на психрофильную микрофлору.

Очень важный показатель зрелого молока — общее количество молочнокислых бактерий. Оно должно быть равным  $10^7$ – $10^8$  КОЕ/см<sup>3</sup>. Эта микрофлора находится на стадии логарифмической фазы развития и хорошо адаптирована к молоку. Если зрелое молоко не используют немедленно, то его охлаждают и хранят при температуре 8°C.

На практике чаще всего с целью экономии времени и энергетических ресурсов созреванию подвергают только часть молока, а в сыродельной ванне его смешивают с незрелым. Зрелое молоко обычно добавляют к свежему в количестве от 15 до 40%. С повышением доли зрелого молока увеличивается скорость обезвоживания сырного зерна и нарастания кислотности сыворотки, сокращается продолжительность обработки зерна, увеличивается выход сыра.

В настоящее время при производстве сыра часто стали применять метод ультрафильтрации для концентрирования белков молока, что позволяет улучшить качество сгустка. Ультрафильтрацию применяют после нормализации по жиру перед пастеризацией при температуре 50±5°C. При этом обычно операция созревания молока исключается. Процесс концентрации ведут до массовой доли сухих веществ 14±2% в зависимости от вида сыра. Кислотность концентрата не более 23°Т.

**Свертывание молока и обработка сгустка.** В производстве сыра имеет значение прочность полученного сгустка, которая является условием, определяющим выход сыра, его консистенцию и отход жира в сыворотку. Плотность сгустка зависит от содержания в молоке казеина, степени зрелости молока, температуры свертывания, добавления солей кальция. Продолжительность свертывания молока в зависимости от вида сыра составляет от 25 до 60 мин. Температура свертывания 28–35°C, что ниже оптимальной температуры действия сычужного фермента 43–45°C. Это объясняется необходимостью создания благоприятных условий не только для фермента, но и для молочнокислой микрофлоры закваски.

Цель операции обработка сгустка — создание условий для микробиологических и ферментативных процессов, необходимых для выработки сыра, что достигается частичным обезвоживанием сгустка. В полученной сырной массе должно оставаться определенное количество сыворотки, содержащей лактозу и минеральные соли, которые необходимы для роста заквасочной микрофлоры.

В сгустке продолжается молочнокислое брожение, накопившаяся молочная кислота снижает электрический заряд белков и тем самым уменьшает их гидрофильные свойства: белки легко отдают влагу и сгусток обезвоживается. При нормальном течении молочнокислого процесса при вымешивании зерна нарастание кислотности сыворотки составляет  $1\pm 0,5^{\circ}\text{T}$  — для сыров с высокой температурой второго нагревания и  $1,5\pm 0,5^{\circ}\text{T}$  — для сыров с низкой температурой второго нагревания.

Для ускорения выделения сыворотки, интенсификации молочнокислого процесса, увеличения объема микрофлоры и повышения кислотности сырной массы сгусток дробят, вымешивают и проводят второе нагревание сырного зерна.

Температура и продолжительность второго нагревания оказывают значительное влияние на микробиологические и биохимические процессы в сыре, а следовательно, на формирование органолептических показателей готового продукта. В зависимости от вида сыра установлены следующие температуры второго нагревания:

- сыры с высокой температурой второго нагревания —  $47\text{--}58^{\circ}\text{C}$ ;
- сыры с низкой температурой второго нагревания —  $36\text{--}42^{\circ}\text{C}$ .

При медленном нарастании кислотности сыворотки температуру снижают, при интенсивном — повышают. При необходимости для предотвращения развития в сыре излишне высокого уровня молочнокислого процесса и для получения сыра с более нежной консистенцией проводят разбавление (раскисление) сыворотки питьевой пастеризованной водой в начале второго нагревания. Количество добавляемой воды зависит от интенсивности молочнокислого процесса, обычно она составляет 5–15% от перерабатываемого молока.

**Формование и прессование сырного зерна.** Во время формования и прессования сырной массы микробиологические процессы продолжают, объем микрофлоры увеличивается, повышается активная кислотность сырной массы и происходит ее дальнейшее обезвоживание. При этом температура сыра поддерживается в пределах  $18\text{--}20^{\circ}\text{C}$ . Пониженные температуры замедляют процесс молочнокислого брожения и выделения сыворотки, что может отрицательно сказаться на качестве готового продукта.

**Посолка** является одним из основных этапов получения натурального сыра. Поваренная соль формирует характерный вкус и консистенцию сыра, обеспечивает дополнительное выделение сыворотки, воздействует на активность микроорганизмов и ферментов, увеличивает гидратацию белков.

При посолке сыра в рассоле происходит удаление лактозы из сыра, сначала с поверхностного слоя, а затем из более глубоких слоев, а в сырную массу поступает соль. В результате этого бактериологические процессы замедляются, что имеет большое значение для борьбы с ранним вспучиванием сыра, вызываемым бактериями группы кишечных палочек.

## 9.4. ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАКВАСОК ДЛЯ РАЗНЫХ ГРУПП СЫРОВ

В сыроделии применяют многоштаммовые, фагоустойчивые закваски микроорганизмов, обладающих протеолитическими и липолитическими свойствами и повышенной устойчивостью к соли, обычно в виде бакконцентратов.

Закваски, вносимые в молоко в процессе технологической обработки, выполняют следующие функции:

- активизируют действие молокосвертывающих ферментов и стимулируют синерезис при образовании сгустка;
- принимают участие в формировании органолептических показателей, рисунка и текстуры сыра;
- подавляют развитие технически вредных и патогенных микроорганизмов, снижающих качество сыра и вызывающих его порчу или вызывающих пищевые отравления.

В соответствии с предложенной А. В. Гудковым классификацией сыров, в зависимости от состава необходимой микрофлоры их можно разделить на вырбатываемые при участии:

- только мезофильных молочнокислых бактерий;
- мезофильных и термофильных молочнокислых и пропионовокислых бактерий;
- плесневых грибов;
- микрофлоры поверхностной слизи;
- бифидобактерий и/или ацидофильной палочки.

Рассмотрим особенности состава заквасок для разных групп сыров.

**1. Сычужные сыры с низкой температурой второго нагревания** (Голландский, Костромской и др.): мезофильные лактококки *Lac. lactis* и *Lac. cremoris* (активное сбраживание лактозы), ароматообразующие *Lac. lactis subsp. diacetylactis*, *Leu. dextranicum*, *Leu. lactis* (формирование вкуса и рисунка сыра). Для некоторых видов сыров с низкой температурой второго нагревания для регулирования интенсивности и направленности молочнокислого процесса могут быть дополнительно использованы моновидовые закваски термофильных бактерий.

Для подавления развития БГКП в закваски добавляют *Lb. plantarum*, для подавления маслянокислых бактерий — специально подобранные штаммы *Lb. fermentum*.

Среди сыров данной группы выделяют подгруппу сыров с **высоким уровнем молочнокислого брожения** (Чеддер, Российский и др.), в состав закваски для которых входят мезофильные лактококки (*Lac. lactis*, *Lac. cremoris*) и молочнокислые палочки (*Lb. plantarum*, *Lb. casei* и *Lb. bulgaricus*).

**2. Сычужные сыры с высокой температурой второго нагревания** (Швейцарский, Советский и др.), сыры с чеддеризацией и термомеханической обработкой, некоторые виды мягких сыров: к закваске, аналогичной пре-

дыдущему описанию, добавляют термофильные палочки *Lb. helveticum*, *Lb. lactis*, термофильный стрептококк *Str. thermophilus* и пропионовокислые бактерии *Propionibacterium shermanii* или *Pr. freudenreichii*. Пропионовокислые бактерии принимают активное участие в формировании специфического вкуса, аромата, рисунка и консистенции этих сыров наряду с молочнокислыми бактериями.

При высоком обсеменении молока маслянокислыми микроорганизмами необходимо использовать бактериальный препарат «Биоантибут», антагонистически действующий на эти виды бактерий.

**3. Рассольные сыры.** Применяют бактериальную закваску двух видов: закваску для сыров с низкой температурой второго нагревания, состоящую из активных кислотообразователей (*Lac. lactis*, *Lac. cremoris*) и ароматообразующих бактерий (*Lac. lactis* *subsp. diacetylactis*, *Leu. dextranicum*, *Leu. lactis*). В бактериальные препараты для мелких сыров могут быть включены наряду с лактококками мезофильные молочнокислые палочки *Lb. plantarum* и *Lb. casei*, обладающие антагонистическим действием на маслянокислые бактерии, кишечные палочки и патогенную микрофлору.

**4. Мягкие сыры, созревающие при участии молочнокислых бактерий и плесени:** кроме мезофильных лактококков используют споры плесеней, которые наносятся на поверхность сыра (камамбер) или вносятся в молоко, в сырную массу, а также иглами в головку сыра (рокфор).

В состав плесеней, развивающихся на поверхности сыра, входят *Oidium lactis*, *Penicillium candidum*, *Penicillium camamberti* и *Penicillium album*. При созревании сыров типа рокфор применяется зелено-голубая плесень *Penicillium roquefort* и *Penicillium glaucum*, развивающиеся внутри головки сыра.

*Oidium lactis* — «молочная плесень», мицелий которой представляет собой маловетвистые, многоклеточные нити. Развивается не только на поверхности сыра, но и в глубине при минимальном доступе воздуха. Этот вид плесени хорошо развивается при pH среды 5,2, а с повышением активной кислотности до pH 3 рост ее почти прекращается. Она разлагает молочную кислоту и быстро гидролизует молочный жир, вызывая его прогоркание.

*Penicillium candidum*. Мицелий и споры белого цвета, причем даже самые старые колонии, до конца сохраняют этот первоначальный цвет. На поверхности сыра она образует толстый белый пушистый слой мицелия, внедряющийся в поверхностный слой сырного теста, и вместе с ним может легко отделяться от сыра. При развитии *Pen. candidum* потребляет молочную кислоту, в результате чего кислотность сырной массы снижается. Обладает протеолитической и липолитической активностью. Данный вид плесени применяют при производстве закусочных сыров.

Рекомендуется использовать *Penicillium candidum* в сочетании с быстрорастущей плесенью *Geotrichum candidum*, которая быстро распространяется на поверхности сыра и предотвращает заражение патогенными спорами.

Затем поверх *Geotrichum candidum* вырастет пушистая белая плесень *Pen. candidum*.

*Penicillium album*. На поверхности сыра эта плесень образует тонкий слой мицелия, который врастает так прочно, что его невозможно отделить от сыра. Мицелий окрашен в белый цвет, а споры имеют слабый синеватый или свинцово-серый оттенок, иногда темно-синий или сине-серый. Темная окраска спор портит внешний вид сыра.

При выработке сыров Русский камамбер, Белый десертный применяют плесени *Pen. candidum* и *Pen. album*, специально культивируемые на поверхности (корке) сыров. Плесень, развивающаяся на поверхности сыров, имеющей рН 4,7–4,9, нейтрализует продуктами своей жизнедеятельности поверхностный слой сыра, что содействует распаду белков сырной массы. Поэтому эти сыры созревают постепенно от корки к центру сыра. С развитием белой плесени у сыра появляется специфический грибной привкус.

**5. Мягкие сыры, созревающие при участии молочнокислых бактерий, плесени и микрофлоры сырной слизи (Латвийский, Пятигорский и др.).** При выработке Латвийского сыра используют мезофильные лактококки; Пятигорского — мезофильные лактококки и термофильные палочки *Lb. helveticum*. В созревании этой группы сыров участвует микрофлора сырной слизи, которая культивируется на поверхности сыров.

Микрофлора сырной слизи смешанная и разнообразная. В сырной слизи содержатся плесень *Oidium lactis*, дрожжи *Torulopsis* и *Mycoderma*, палочки (*Bact. linens*, *Bact. casei*, *Bact. limburgensis*, *Bact. bruneum*), микрококки (*Micrococcus varians*, *Micrococcus freudenreichii*, *Micrococcus caseolyticus*, *Micrococcus limburgensis*), лактококки и палочки. Эта микрофлора придает сырам специфический острый, слегка аммиачный вкус и аромат.

Дрожжи, развиваясь на поверхности сыра, создают благоприятные условия для жизнедеятельности микроорганизмов, развивающихся после их отмирания; они обогащают среду факторами роста и снижают кислотность сырной массы. Микрококки, развиваясь на поверхности сыра, разлагают казеин, и некоторые из них способны к образованию спирта и ряда летучих жирных кислот.

Из микрофлоры сырной слизи важное значение имеет *Bact. linens*. Считается, что типичный вкусовой букет сыров, созревающих при участии сырной слизи, зависит главным образом от этого вида бактерий. *Bact. linens* — неподвижная, искривленной формы, короткая аэробная палочка красноватого или оранжевого цвета, разлагает белки молока, не сбраживает углеводы, не образует кислот и газ.

Бактерии размножаются при температуре 8–37°C, оптимальная температура роста — около 21°C; чувствительны к кислой реакции среды, хорошо развиваются при рН среды 6–9,8; растут при содержании соли в среде до 15%; образуют активную внеклеточную протеиназу, которая разлагает казеин с образованием аминокислот и аммиака. Активность внеклеточной протеиназы проявляется в диапазоне рН 5,6–8,8, оптимум ее действия при рН 7,2–7,3.

## 9.5. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ СЫРА В ПРОЦЕССЕ СОЗРЕВАНИЯ

При созревании происходит формирование органолептических показателей сыра за счет биохимических превращений лактозы, белков и молочного жира под действием заквасочной микрофлоры и ферментов.

**Изменение лактозы.** Под действием молочнокислых бактерий глюкоза, которая образуется при гидролизе лактозы, превращается в молочную кислоту. Процесс этот идет непрерывно с момента внесения в молоко закваски молочнокислых микроорганизмов, продолжается при формировании, прессовании и посолке сыра, а также на первом этапе созревания.

В состав закваски вводят кислотообразующие и ароматообразующие бактерии. Ароматообразующая микрофлора является источником ароматических веществ (эфирные масла, спирты и некоторые карбонильные соединения), а также углекислого газа, без которого невозможно образование нормального рисунка сыра. При отсутствии в составе заквасок ароматообразующей микрофлоры, как правило, сыр получается без рисунка, ухудшается его консистенция из-за чрезмерно высокой кислотности. Ароматообразующие бактерии, преобразуя часть лактозы в побочные продукты брожения, являются регуляторами активной кислотности сырной массы, уменьшают выход молочной кислоты.

Для большинства сычужных сыров максимальное увеличение количества бактерий (до нескольких миллиардов в 1 г сыра) наблюдается на 7–10 день созревания, но затем количество их резко снижается. Динамика изменения количества бактерий в сыре связана с расходом основного продукта их питания — лактозы, запасы которого истощаются уже в первые дни созревания, что влечет за собой гибель клеток.

Гибель молочнокислых бактерий сопровождается автолизом клеток и высвобождением внутриклеточных ферментов (эндоферментов), обладающих наиболее сильной протеолитической активностью и более широкой специфичностью действия по сравнению с ферментами, которые выделяют бактерии в прижизненный период. Эндоферменты молочнокислых бактерий осуществляют в основном протеолиз молочного белка. Таким образом, молочнокислое брожение подготавливает почву для последующего превращения белковых веществ в процессе созревания сыра.

**Изменение белковых веществ.** В образовании специфического вкуса и аромата сыров изменения, которые претерпевают белковые вещества, имеют первостепенное значение. В процессе созревания проходит ферментативный гидролиз параказеина под действием сычужного фермента или его аналогов и ферментов молочнокислых бактерий. При этом преобладающее значение имеют ферменты молочнокислых бактерий (85%).

Под действием сычужного фермента параказеин распадается в основном с образованием пептонов и полипептидов, ферменты молочнокислых бактерий

вызывают более полный распад с образованием конечных продуктов — аминокислот.

В зависимости от создаваемых в сырной массе условий процесс протеолиза может протекать с преимущественным накоплением конечных продуктов распада — дипептидов, аминокислот и продуктов их декарбоксилирования и дезаминирования.

Образующийся в процессе дезаминирования аммиак насыщает сырное тесто и придает ему пикантную остроту. Декарбоксилирование аминокислот протекает с отщеплением углекислого газа, который участвует в образовании рисунка сыра. При накоплении аминов сырная масса приобретает щелочные свойства. По мере накопления в сырах свободных аминокислот усиливается и специфический острый сырный вкус. Такое состояние характерно для полностью зрелых сыров и соответствует высоким органолептическим свойствам, в частности вкусу и аромату.

При созревании в холодных подвалах или при недостатке протеолитических ферментов ферментативный распад белков менее глубокий и в сырах накапливаются преимущественно первичные продукты гидролиза — высокомолекулярные пептиды. Пептоны и некоторые высокомолекулярные пептиды обладают горьким вкусом, поэтому сыр приобретает горьковатый привкус пептонного характера. Консистенция такого сыра плотная, аромат слабый, что свидетельствует о его неполном созревании.

**Изменение молочного жира.** Липолиз происходит в сырах во время созревания и влияет на формирование специфических органолептических показателей сыра. Как правило, степень липолиза жира в сырах из пастеризованного молока ниже, чем в сырах из сырого молока, что частично объясняется потерей активности липазы молока во время пастеризации.

Основным продуктом гидролиза жира являются свободные жирные кислоты (СЖК) с числом атомов углерода более 4. Сыры с низким содержанием СЖК имеют умеренно выраженный сырный вкус. Содержание СЖК возрастает по мере созревания сыра, что коррелирует с повышением выраженности и остроты сырного вкуса. В сырах, вырабатываемых только с использованием закваски молочнокислых бактерий, содержание СЖК составляет 0,25–2% от общего количества жирных кислот в сыре, в то время как в сырах, вырабатываемых с применением плесени, например сыре «Рокфор», этот показатель равен 8–10%. В зрелом сыре содержатся летучие жирные кислоты — масляная, капроновая, каприловая, валериановая, уксусная, пропионовая, придающие сыру определенные выраженные вкус и аромат.

Для усиления выраженности вкуса и аромата сыров пониженной жирности рекомендуется часть сливок, используемых для нормализации молока, гомогенизировать, что позволит ускорить процесс гидролиза жира.

Большое значение на формирование органолептических показателей сыров оказывает состав заквасочной микрофлоры. Установлено, что сыры лучшего качества получены при использовании заквасок, обладающих высокой липолитической и фосфолипазной активностью. Закваски, содержащие в своем со-

ставе *Lac. lactis subsp. cremoris* + *Leuconostoc*, образовывали в сыре больше СЖК, чем закваски, содержащие *Lac. lactis subsp. cremoris* + *Lac. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis*.

Липолиз необходим для формирования органолептических показателей твердых сыров, но он не должен превышать определенного уровня. Повышение липолиза выше критического уровня вызывает такие пороки, как прогорклый вкус и запах, нечистый, фруктовый, салистый привкусы.

## 9.6. ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ СОЗРЕВАНИИ РАЗНЫХ ГРУПП СЫРОВ

**Твердые сыры с высокой температурой второго нагревания.** Особенность сыров этой группы — ступенчатый режим созревания, определенный уровень активной кислотности сырной массы на каждом этапе созревания. В сырном зерне перед вторым нагреванием преобладают лактококки. Под действием высокой температуры второго нагревания объем микрофлоры в сырной массе уменьшается за счет частичной гибели лактококков. Термофильные молочнокислые палочки остаются жизнеспособными и уже в односуточном сыре их количество составляет 50–80%. Через 2–5 суток созревания отмечается максимальное накопление молочнокислых бактерий.

Температурные режимы созревания: 10–12, 18–25, 8–12°C. Использование ступенчатого режима созревания позволяет регулировать направление микробиологических процессов. В период предварительного созревания в холодной камере при температуре 10–12°C в первые 15–25 суток развиваются лактококки, высвобождаются и накапливаются внутриклеточные ферменты молочнокислых бактерий, восстанавливается активность пропионовокислых бактерий, несколько выравнивается содержание поваренной соли по всему монолиту сыра, повышается на 0,1–0,2 ед. рН сырной массы, т. е. в этот период происходит предварительная подготовка сырной массы к активному созреванию. В этот же период созревания сыр освобождается от поверхностной влаги и микробиологические процессы в нем замедляются.

После помещения сыра в бродильную камеру с температурой 18–25°C соотношение лактококков и палочек изменяется, их соотношение становится одинаковым, при этом наиболее активно развиваются пропионовокислые бактерии. В этот период в сыре образуется и развивается рисунок, формируется типичный вкус, закладываются основы характерной консистенции. По истечении пребывания в теплой камере и до конца созревания в сырах преобладают молочнокислые палочки. После бродильной камеры сыры перемещают в холодную камеру до конца созревания.

**Твердые сыры с низкой температурой второго нагревания.** При выработке сыров этой группы количество лактококков уже в первые 5–10 дней созревания достигает максимального значения (2,5–3,5 млрд клеток в 1 г). В течение 1–2 мес. основная масса лактококков погибает, одновременно проис-

ходит увеличение количества мезофильных молочнокислых палочек *Lb. plantarum* и *Lb. casei subsp. rhamnosus*, которое достигает максимума через 1,5–2 мес. При дальнейшем созревании сыра постепенно отмирают и молочнокислые палочки. Развивающиеся молочнокислые палочки (*Lb. plantarum* и *Lb. casei subsp. rhamnosus*) попадают в сыр с заквасочной микрофлорой, а также с молоком. Их размножение на второй стадии созревания сыра обусловлено способностью усваивать в качестве источника углерода соли молочной кислоты (лактаты).

В процессе созревания применяют температурные режимы: 10–12, 14–16 и 10–12°C.

**Мягкие сыры, созревающие при участии микрофлоры сырной слизи.** В первые дни созревания на поверхности сыра бурно развиваются плесени рода *Oidium lactis* и дрожжи рода *Torulopsis* и *Mycoderma* из-за кислой среды и высокой относительной влажности воздуха. В процессе жизнедеятельности плесени интенсивно разлагается молочная кислота, понижается активная кислотность поверхностных слоев сыра. По мере снижения активной кислотности с нарастающим темпом начинают развиваться микрококки и протеолитические бактерии сырной слизи. Этому процессу способствует накопление витаминов и ростовых веществ, образующихся в результате отмирания и автолиза дрожжей. Наряду с этим активно выделяется аммиак вследствие дезаминирования азотистых веществ. Затем протеолитические бактерии начинают отмирать.

Повышенное содержание влаги в этих сырах и относительно высокая влажность воздуха в сырохранилищах способствует интенсивному протеканию микробиологических процессов. Созревание идет от поверхности к центру головки. Слизь появляется на поверхности сыра через 6 суток после посолки. Во время созревания регулируют развитие слизи на поверхности сыра. Для этого сыры перетирают влажной салфеткой и переворачивают каждые 2–3 суток.

Сыры имеют характерный острый, специфический, слегка аммиачный вкус и запах. Консистенция всех сыров этой группы характеризуется меньшей твердостью и упругостью и большей пластичностью, чем полутвердые сыры с низкой температурой второго нагревания аналогичной жирности.

## 9.7. ПОРОКИ СЫРОВ И МЕРЫ ИХ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

В процессе производства, созревания, хранения сыров могут появляться свойства, прежде всего органолептические, не соответствующие нормируемым показателям, которые называют пороками сыров. Одна и та же причина может вызывать различные пороки сыров, и, как правило, они тесно взаимосвязаны. Основные группы пороков сыров, связанных с развитием микрофлоры, показаны на рисунке 9.2.

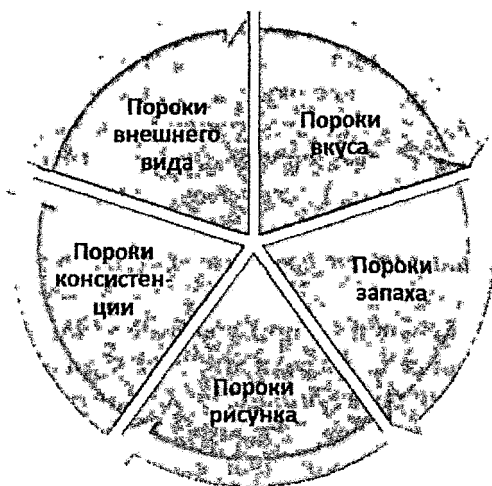


Рис. 9.2

Классификация пороков сыров микробиологического происхождения

К порокам вкуса и запаха относятся горький, кислый, нечистый вкус, слабовыраженные и нетипичные вкус и аромат, прогорклые, затхлые, салитые вкус и запах; консистенции — твердая, грубая, резиновая, мажущаяся, крошливая, ломкая, мучнистая консистенция, самокол; рисунка — отсутствие рисунка, мелкий и редкий рисунок; вспучивание; внешнего вида — деформация головок, повреждение корки, подгорковая и осповидная плесень, появление на ней коричневых и другого цвета пятен, свиц. Рассмотрим причины возникновения и меры предотвращения наиболее распространенных видов порчи сыров.

**Пороки вкуса и запаха.** *Горький вкус* — порок, который чаще всего встречается в сычужных сырах с низкими температурами второго нагревания. Причинами возникновения горького вкуса сыров может быть наличие горьких веществ в молоке, попавших из кормов, солей магния, внесенных в сыр с солью и хлористым кальцием низкого качества, и горькие гидрофобные пептиды с молекулярным весом меньше 1400, образующиеся при расщеплении казеина внесенными молокосвертывающими ферментами, заквасочной или посторонней микрофлорой. Лактококки закваски способны расщеплять горькие пептиды, однако скорость расщепления уменьшается при снижении pH и температуры созревания сыров. Возникновению пептидной горечи способствует попадание бактериофага в смесь молока для производства сыров; применение незрелого, сычужно-вялого молока; сильное загрязнение сырого молока психротрофными бактериями; пастеризация при температурах выше 76°C. Этот порок наблюдается также при высокой исходной кислотности молока, заражении молока *Enterococcus faecalis subsp. liquefaciens*, неправильной посолке. Для предотвращения порока горечи сыров особое внимание нужно обращать на контроль ка-

чества заквасок, применяемых солей и ферментов, скорости кислотообразования и режимов созревания.

*Кислый вкус.* Причины порока: использование молока повышенной кислотности, интенсивное размножение молочнокислых бактерий. Разновидностью этого порока является творожистый вкус, сочетающийся с малосвязной, рыхлой консистенцией. Для предотвращения порока необходимо получить оптимальные значения кислотности и влажности сыров после прессования, регулируя температуру второго нагревания, дозу и состав закваски (особенно наличие в ней лейконостоков), степень разбавления сыворотки, количество вносимой в зерно соли. В крупных сырах также обеспечить требуемую интенсивность пропионовокислого брожения.

*Слабовыраженный вкус и аромат.* Как правило, сыры со слабовыраженным сырным вкусом имеют пороки и по консистенции или рисунку. Иногда сыр имеет приемлемые, но не характерные для данного вида органолептические показатели, в этом случае он может быть понижен в сортности или забракован. Недостаточная выраженность сырного вкуса или аромата может быть связана с низкой влажностью сыров после прессования, низкими значениями рН и температуры созревания, высокой степенью посолки сыра. Причиной порока может быть также применение малоактивных бактериальных заквасок (низкая кислотообразующая и протеолитическая активность), а в крупных сырах — слабое развитие пропионовокислых бактерий из-за нарушения технологических режимов.

*Нечистый вкус* — это несвойственный сыру вкус, существенно ухудшающий его потребительские свойства, часто сопровождается неприятным запахом. Формирование этой группы пороков связано с образованием вторичных продуктов метаболизма (протеолиза, липолиза, в меньшей степени гликолиза) микроорганизмов, таких как этиловые эфиры жирных кислот (фруктовый вкус), уксусного альдегида (резкий вкус), 3-метил-бутанола из лейцина (подгорелый привкус), сероводорода и метанэтиола (сероводородный, сернистый), продуктов распада белка (гнилостный), комплекс метаболитов дрожжей (броженный) и др. Причиной нечистого вкуса могут быть психротрофные микроорганизмы сырого молока, бактерии группы кишечных палочек, гетероферментативные лактококки, лейконостоки и лактобациллы незаквасочного происхождения, а также введение в состав заквасок штаммов термофильного стрептококка, не сбраживающих галактозу. Исключение длительного хранения сырого молока, правильный подбор заквасок, предупреждение развития посторонней микрофлоры относятся к основным мерам предупреждения порока нечистого вкуса.

*Прогорклые вкус и запах* обусловлены низкомолекулярными жирными кислотами (главным образом масляной кислотой), которые образуются при расщеплении жира липазами психротрофных бактерий, маслянокислых клостридий, плесеней. Для предотвращения данного порока необходимо контролировать качество молока (особенно по соматическим клеткам и спорообразующим анаэробным бактериям), продолжительность его хранения при низких

температурах, предупреждение маслянокислого брожения в сыре и размножения микрофлоры на его поверхности.

*Затхлые вкус и запах* вызываются накоплением в сыре 2-метокси-3-алкилпиразина — летучего азотистого соединения, образуемого *Pseudomonas graveolens* и разнообразной микрофлорой сырной слизи, включающей дрожжи, плесени, коринебактерии, брeвибактерии и микрококки. Салистый вкус появляется в сырах при развитии плесеней, чаще всего родов *Penicillium*, *Geotrichum* и *Candida*. Для предупреждения пороков необходимо строго контролировать качество рассола, влажность сыров, правильно формировать корку сыров, использовать кислородонепроницаемое покрытие с фунгицидными препаратами, контролировать условия в камерах созревания сыров.

**Пороки консистенции.** *Твердая, грубая консистенция* формируется из-за низкого содержания влаги и недостаточного протеолиза. Для регулирования влажности сыров можно влиять на скорость и уровень кислотообразования во время выработки с помощью правильно подобранных доз и состава закваски. Необходимо также контролировать количество соли, вносимой в зерно, температуру и продолжительность второго нагревания, продолжительность обработки зерна. Высокая степень посолки, низкая кислотность рассола и низкие температуры созревания замедляют протеолиз и могут привести к излишне твердой консистенции сыра.

*Резинистая консистенция* является следствием низкой скорости кислотообразования и внесения высоких доз хлорида кальция, а также излишней обсушки сырного зерна при низком содержании влаги в сыре после прессования, завышенного содержания белка в молочной смеси и пониженного содержания жира. В сырах с высокой температурой второго нагревания резинистая консистенция может возникать при излишне высокой интенсивности пропионово-кислого брожения.

*Мажущаяся консистенция* появляется как результат излишнего протеолиза, вызванного высокой влажностью сыра, низким уровнем посолки, большим количеством молокосвертывающих ферментов, остающихся в сыре, высокими температурами созревания. Консистенция сыров, которые солят в рассоле, в различных слоях может быть разнородной: в центре мажущейся, на периферии — твердой или даже ломкой. Появление мажущейся консистенции также может являться следствием посолки сыров с высокой кислотностью.

*Рыхлая, крошливая, ломкая консистенция* возникает вследствие переработки перезрелого молока, чрезмерно активного размножения молочнокислых бактерий и молочнокислого брожения. Повышение кислотности сырной массы замедляет протеолиз, и по консистенции сыры начинают напоминать творог. Меры предупреждения появления этого порока те же, что и для порока кислого вкуса.

*Колющаяся консистенция (самокол).* При газообразовании тесто раскалывается, в сыре возникают трещины более 1 см. К самоколу близок порок «щелевидный рисунок», когда глазки имеют форму сильно сплюснутых линз. Условия возникновения порока — недостаточная связность сырной массы и га-

зоообразование. Основная причина порока — повышенная кислотность молока, неправильная обработка сырной массы, резкие колебания температуры при переносе сыров из теплой камеры в холодную. Самокол наблюдается на второй стадии созревания и преимущественно в сырах с высокой температурой второго нагревания (Швейцарском и Советском сырах). Для предупреждения порока необходимо использовать активные закваски, регулировать дозу их внесения, продолжительность обработки и степень посолки зерна, влажность сыра, предотвращать заражение сыров термофильными стрептококками и лактобациллами; использование культур пропионовокислых бактерий, не образующих газ при температурах ниже 14°C; предотвращение развития.

*Мучнистая консистенция* наблюдается при замораживании и последующем оттаивании, повышенной концентрации соли в сыре, загрязнении сыра солеустойчивыми молочнокислыми палочками (старый рассол), постановке мелкого зерна в сырах типа Голландского, хранении сыра при повышенных температурах.

**Пороки рисунка.** *Раннее вспучивание* сыров связано с интенсивным развитием газообразующей микрофлоры в первые 5–10 суток после выработки. Возбудителями являются бактерии группы кишечных палочек, реже дрожжи и лейконостоки. БГКП оказывают отрицательное влияние на органолептические показатели, вызывают появление нечистого, затхлого вкуса и запаха. Вспучивание головок происходит в сырах при наличии БГКП более  $10^7$  КОЕ/г, при более низких уровнях развития может формироваться порок рваного, броженного, сетчатого рисунка. Главная причина развития порока — снижение активности микрофлоры закваски. Для предупреждения раннего вспучивания необходимо использовать молоко без ингибиторов, активную закваску, защитные культуры; создавать оптимальные условия для развития молочнокислых бактерий; предупреждать попадание и развитие бактериофагов, строго соблюдать режимы пастеризации молока, правила санитарии и гигиены, мойки и дезинфекции.

Возбудители *позднего вспучивания* сыров — это маслянокислые бактерии *Clostridium tyrobutyricum*, реже *Cl. butyricum*, которые развиваются в созревающем сыре после прекращения молочнокислого процесса и повышения pH сыра вследствие накопления продуктов белкового распада при созревании сыра. Маслянокислые бактерии в сыр попадают с молоком при кормлении коров некачественным силосом. Для позднего вспучивания характерны: неправильный, щелевидный рисунок сыра; мажущаяся консистенция и белесый цвет теста; резкий запах масляной кислоты; неприятный сладкавый и даже прогорклый вкус. В крупных сырах маслянокислое брожение часто приводит к образованию крупных, неправильной формы глазков и щелевидных пустот, а также к появлению чрезмерно больших глазков, так называемого бычьего глаза.

Для борьбы с поздним вспучиванием применяют штаммы *Lac. lactis*, вырабатывающие низин. При этом в состав закваски вводят также низиноустойчивые штаммы *Lac. lactis*, *Lac. cremoris* и ароматообразующие лактококки. В качестве антагонистов маслянокислых бактерий и кишечных палочек используют биологически активные штаммы *Lb. plantarum*.

Раннее и позднее вспучивание может приводить к искривлению головок сыра, т. е. к возникновению порока деформации головок.

*Отсутствие рисунка («слепой» сыр).* Порок возникает при использовании молока с пониженным содержанием цитратов или из-за слабого развития ароматообразующих молочнокислых бактерий в мелких сырах и пропионово-кислых бактерий в Швейцарском и Советском сырах. Меры предупреждения порока: контроль качества и видового состава заквасок на наличие ароматообразующих бактерий; применение зрелого молока с кислотностью, не превышающей оптимальной величины; обеспечение температуры созревания сыра согласно технологическим нормативам.

*Редкий и мелкий рисунок* наблюдается при переработке молока повышенной кислотности, при низкой температуре созревания сыра, а в крупных сырах — при подавлении развития пропионовокислых бактерий вследствие пересола сыра.

*Рваный, сетчатый или губчатый рисунок.* Он появляется в свежем сыре в начале созревания вследствие развития бактерий группы кишечных палочек, дрожжей. Газ (смесь  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2$ ) быстро насыщает тесто и, выделяясь, образует частый и мелкий рисунок. Меры предупреждения порока: контроль качества перерабатываемого молока и эффективности пастеризации; устранение источников обсеменения сырного зерна технически вредной микрофлорой; понижение температуры посолки.

*Неравномерный рисунок.* В сырах, формуемых из пласта, такой порок возникает по причине неравномерного охлаждения сырной массы при посолке, одновременного развития различной газообразующей микрофлоры, редкого переворачивания головок при созревании.

Развитие поверхностной микрофлоры приводит к повреждению корки и формированию целого ряда пороков внешнего вида, консистенции, вкуса и запаха сыров. *Появление цветных пятен* на поверхности сыров связано с развитием пигментообразующих микроорганизмов. Плесени рода *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* образуют черные и темно-коричневые пятна, псевдомонады могут образовывать красно-коричневые пятна, дрожжи — красные и желтые пятна. *Изъязвление корки* вызывается осповидной плесенью рода *Geotrichum*, которая сначала образует белые пятна, а затем появляются углубления диаметром 1–15 мм, проникающие в подкорковый слой. В результате образования щелочных продуктов белкового распада создаются условия для развития гнилостных бактерий и дрожжей. *Подкорковое плесневение* вызывается *Penicillium glaucum*, *Pen. album*, *Aspergillus niger* и другими видами плесеней, которые могут развиваться при нарушении целостности корки, что приводит к появлению нечистого, прогорклого, салистого вкуса и запаха сыра.

Меры по предотвращению пороков сыров этой группы направлены на исключение возможности обсеменения поверхности сыра возбудителями пороков и подавление их развития. Хорошая отпрессовка сыра с формированием замкнутой поверхности, регулярная тщательная мойка и дезинфекция оборудования и всех поверхностей, с которыми соприкасаются сыры, контроль воды и возду-

ха, качества рассола, применение озона и УФ-облучения, фунгицидных средств, упаковка в пленки под вакуумом, соблюдение условий влажности и температуры при хранении сыров позволяют предупредить развитие микрофлоры на поверхности сыров.

## 9.8. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ В СЫРОДЕЛИИ

Основные критические контрольные точки при производстве сыра: молоко-сырье, пастеризация, созревание молока, закваска, функционально необходимые добавки (ферменты, хлорид кальция, пищевая поваренная соль), образование сгустка, разрезка, постановка зерна, формование, прессование, посолка, созревание, упаковывание, готовый продукт, хранение.

**Молоко-сырье** — основная критическая контрольная точка при производстве сыра и сырных продуктов. Кроме общих критериев безопасности и качества для сыроделия важны специфические критерии сыропригодности молока-сырья. Качество молока во многом определяется условиями его хранения и первичной обработки и зависит от очистки, температуры и продолжительности хранения. Хранение сырого молока при температуре ниже  $6 \pm 1^\circ\text{C}$  снижает его сыропригодные свойства по микробиологическим, физическим и химическим показателям.

В процессе хранения молока при низких положительных температурах происходит развитие и размножение психротрофных микроорганизмов, продуцирующих термостойкие протеазы и липазы, которые, попадая в сыр, приводят к порокам: горечь, прогорклость, посторонний запах и вкус. Количество психротрофных микроорганизмов в молоке до пастеризации не должно превышать  $10^5$ – $10^6$  КОЕ/см<sup>3</sup>. Молоко с повышенным содержанием психротрофных микроорганизмов следует направлять на производство сыров без созревания либо на производство иных молочных продуктов.

**Пастеризация молока.** В сыроделии для сохранения сыропригодных свойств молока используется низкотемпературная пастеризация  $72 \pm 2^\circ\text{C}$  в течение  $20 \pm 5$  с. При высоком уровне микробного обсеменения молока-сырья (более  $5 \times 10^5$  КОЕ/см<sup>3</sup>) рекомендуется проведение пастеризации при температуре  $74 \pm 2^\circ\text{C}$  с той же выдержкой. Большая часть остаточной микрофлоры в пастеризованном молоке является обязательной микрофлорой, обеспечивающей процессы созревания сыров совместно с заквасочными микроорганизмами.

**Созревание молока.** Кислотность исходного молока, направляемого на созревание, не должна превышать  $18^\circ\text{T}$ . Предельная кислотность молока после созревания — не более  $20^\circ\text{T}$ . Для защиты от бактериофагов при созревании молока применяется иная закваска, чем для выработки сыра. Важный показатель созревшего молока — количество молочнокислых бактерий ( $10^6$ – $10^7$  КОЕ/см<sup>3</sup>).

**Закваска.** Состав, доза и способ применения закваски (концентрированной и неконцентрированной) зависят от вида вырабатываемого сыра или сыр-

ного продукта, качества используемого молока-сырья и особенностей технологического процесса.

Контроль содержания заквасочных микроорганизмов на разных этапах производственного процесса следует проводить при нарушении молочнокислого процесса во время выработки (замедление скорости нарастания титруемой кислотности или падения значений рН), при повышенных значениях рН сыра после прессования или появлении пороков готового продукта, связанных с заквасочной микрофлорой (табл. 9.1).

Таблица 9.1

**Минимально необходимое содержание жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов на разных этапах технологического процесса производства сыров**

Этапы	Содержание жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов, не менее
Сухая БЗ	$10^9$ КОЕ/Ед
Сухой БК	$10^{10}$ КОЕ/Ед
Активизированный БК	$10^7-10^8$ КОЕ/см <sup>3</sup>
Производственная закваска	$10^9$ КОЕ/см <sup>3</sup>
В смеси для выработки	$10^6-10^7$ КОЕ/см <sup>3</sup>
К концу выработки (сыр после прессования)	$10^7-10^8$ КОЕ/см <sup>3</sup>
Максимальный уровень в процессе созревания сыра	$10^9$ КОЕ/см <sup>3</sup>

**Микробиологические процессы во время выработки** (образование сгустка, разрезка, постановка зерна, формование, прессование).

Во время выработки сыра необходимо строго следить за интенсивностью и направленностью микробиологических процессов по скорости нарастания кислотности сыворотки, а также контролировать значение рН, содержание влаги и количество БГКП в сыре после прессования. Значения прироста титруемой кислотности, рН сыра и содержание влаги должно полностью соответствовать значениям данных показателей в технологической инструкции на вырабатываемый продукт. Данные показатели контролируются в процессе каждой выработки.

При нормальном уровне молочнокислого процесса во время выработки и созревания сыра, высоком качестве сыра и отсутствии специфических пороков вкуса и рисунка, связанных с чрезмерным развитием БГКП, рекомендуемая периодичность контроля содержания БГКП в сыре после пресса — не реже одного раза в 10 дней.

При нарушении уровня молочнокислого процесса во время выработки, высоких значения рН сыра после прессования, появлении пороков вкуса (посторонний, нечистый, затхлый) и особенно в случае раннего вспучивания сыров (до 20 дней после выработки) рекомендуется проводить контроль БГКП в сыре после прессования в каждой партии.

Содержание БГКП в сыре после прессования не должно превышать  $3 \times 10^5$  КОЕ/г (среда АЖФК) или признаки роста на среде Кесслер должны отсутствовать в 0,00001 г.

**Процесс посолки сыра и сырных продуктов.** Соль — один из основных факторов, определяющих возможность или невозможность развития как заквасочных, так и посторонних микроорганизмов, и, следовательно, микробиологическую безопасность продукта.

Соль не может быть использована для подавления посторонней микрофлоры в сырах, так как эти микроорганизмы обычно более устойчивы к соли, чем микрофлора закваски. Для обеспечения микробиологической безопасности сыров рекомендуется исключить полную посолку в зерне. Исключение составляет посолка сыра Чеддер, при производстве которого сбраживание лактозы завершается в процессе выработки.

При повышении температуры рассола до 16–18°C резко увеличивается вероятность микробиологической порчи и развития таких пороков сыра, как горький, кислый, нечистый вкус, самокол и щелевидный рисунок. Снижение температуры до 5–6°C приводит к ингибированию молочнокислого процесса, что замедляет созревание. Для обеззараживания рассола его пастеризуют при температуре 95–100°C с последующей нейтрализацией. Возможно применение ультрафильтрации. Допустимый уровень микрофлоры в рассоле и рекомендуемая периодичность его контроля приведены в таблице 9.2.

Таблица 9.2

**Состав и допустимый уровень содержания значимых микроорганизмов в рассоле**

Микрофлора	Уровень микроорганизмов в рассоле, не влияющий на микробиологическую безопасность и качество сыров, КОЕ/см <sup>3</sup> , не более	Рекомендуемая периодичность контроля
КМАФАнМ	$10^4$ – $10^5$	1 раз в месяц
Солеустойчивые микроорганизмы	$5 \times 10^4$	1 раз в месяц*
Плесневые грибы	$10^3$	1 раз в месяц

*Примечание.* \* При превышении нормативных показателей содержания стафилококков в готовом продукте для выявления причины обсеменения необходимо проводить усиленный контроль рассола на солеустойчивые микроорганизмы с последующей идентификацией стафилококков.

**Процесс созревания сыра.** Регулируя температурные и влажностные режимы процесса созревания сыров в рамках норм, заложенных в технологических инструкциях, можно предотвратить снижение качества и хранимоспособности продукта.

Система циркуляции воздуха в камерах созревания — важный элемент, влияющий на качество сыра за счет возможного обсеменения поверхности сыр-

ной головки спорами плесневых грибов, являющихся причиной поверхностного плесневения. Возможно снижение уровня обсемененности воздуха путем его очистки с применением различных способов (например, использование фильтров, озонирование с использованием озонаторов определенного типа и др.).

Упаковочные материалы, используемые в сыроделии, должны:

- иметь разрешение на применение для упаковки сыров;
- обеспечивать необходимый газообмен;
- иметь микробиологически чистую поверхность.

**Готовый продукт.** В условиях производственной лаборатории контролью подлежит каждая партия готового продукта в стадии кондиционной зрелости на предмет отсутствия признаков роста БГКП в 0,001 г. Контроль проводится методом, предусмотренным действующей документацией.

Сыры, особенно формуемые насыпью, могут быть источником стафилококковых энтеротоксинов. Поэтому их контроль на содержание солеустойчивых микроорганизмов, в том числе стафилококков, является обязательным.

**Хранение.** Сыры необходимо хранить в интервале температур  $-4...6^{\circ}\text{C}$  и влажности воздуха 85–90%.

## ВЫВОДЫ

1. Различают четыре источника микрофлоры сыров: молоко; сычужный фермент; бактериальная закваска; воздух, оборудование и инструменты.

2. Кроме стандартных анализов молока сырого на общую бактериальную обсемененность, количество соматических клеток, антибиотики и другие ингибиторы в сыроделии проводят сычужную, бродильную или сычужно-бродильную пробы, а также определяют наличие спор маслянокислых бактерий.

3. Кроме пастеризации для снижения бактериальной обсемененности молока в сыроделии применяют: бактофугирование, вакуумную или перекисно-катализную обработку, внесение в молоко азотнокислого калия или натрия.

4. Физико-химические и биохимические превращения в молоке и сырной массе при производстве сыров протекают под действием ферментных систем молока, молокосвертывающего препарата и ферментов, продуцируемых микроорганизмами бактериальных заквасок.

5. Правильный выбор технологических параметров (разная степень зрелости молока, температура свертывания и второго нагревания, размеры сырного зерна, степень обезвоживания сырной массы, условия созревания сыра) важен для создания оптимальных условий развития определенных групп микроорганизмов.

6. В сыроделии применяют многоштаммовые, фагоустойчивые закваски микроорганизмов, обладающих протеолитическими и липолитическими свойствами и повышенной устойчивостью к соли, обычно в виде заквасок прямого внесения.

7. Основой заквасок для всех групп сыров являются мезофильные гомо- и гетероферментативные лактококки; для сыров с высокой температурой второго

нагревания дополнительно используются термофильные стрептококки и палочки, а также пропионовокислые бактерии; для плесневых и слизневых сыров — мицелиальные грибы, чаще всего пенициллиновые.

8. При созревании за счет биохимических превращений лактозы, белков и молочного жира под действием заквасочной микрофлоры и ферментов происходит формирование органолептических показателей сыра.

9. Пороки сыров связаны с нарушением формирования консистенции, вкуса и запаха, цвета и поверхности сыров. Основные меры предупреждения основаны на контроле качества молока и закваски, технологических режимов производства, правил санитарии и гигиены.

## ЗАДАНИЯ ДЛЯ РАЗБОРА КОНКРЕТНЫХ СИТУАЦИЙ

1. При дегустации сыра «Российский» было отмечено отсутствие глазков и горький вкус. Определите возможные причины и меры предупреждения порока сыра.

2. При созревании сыра «Ташлянский» было отмечено появление осповидных пятен на поверхности и раннее вспучивание. Определите причины и меры предупреждения порока сыра.

3. При дегустации сыра «Советский» было отмечено наличие мелких глазков неправильной формы и прогорклый привкус. Определите возможные причины и меры предупреждения порока сыра.

4. При созревании сыра «Камамбер» было отмечено появление неприятного аммиачного запаха и вспучивание. Определите причины и меры предупреждения порока сыра.

5. На предприятие была возвращена партия плавленого сыра «Янтарь» с белой плесенью на поверхности и неприятным запахом. Определите возможные причины и меры предупреждения порока сыра.

6. При анализе качества сыра «Сулугуни» было обнаружено несоответствие требованиям стандартов по БГКП. Определите возможные причины и меры предупреждения порока сыра.

## ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

### БАЗОВЫЙ УРОВЕНЬ

1. Назовите источники первичной микрофлоры сыра.
2. Какие микробиологические методы анализа используют в сыроделии с целью предупреждения пороков раннего и позднего вспучивания сыров?
3. Сыропригодность молока и факторы, влияющие на сыропригодность.
4. С какой целью проводят технологическую операцию — созревание молока?

5. Микробиологические процессы в процессе обработки сгустка, прессовании и посолке сыра.
6. Роль заквасочной микрофлоры в сыроделии.
7. Основные источники загрязнения бактериофагом.
8. Назовите основные дефекты рисунка сыров и причины, их вызывающие. Меры их предупреждения.
9. Назовите основные дефекты вкуса и запаха сыров и причины, их вызывающие. Меры их предупреждения.
10. Назовите основные дефекты консистенции сыра и причины, их вызывающие. Меры их предупреждения.
11. Основные критические контрольные точки при производстве сыра.

### ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ

1. Пути снижения бактериальной обсемененности молока в сыроделии.
2. Микробиологические процессы при созревании молока.
3. Микробиологические и биохимические изменения компонентов сыра в процессе созревания.
4. Состав заквасок для сыров с высокой и низкой температурой второго нагревания. В чем их принципиальное отличие?
5. Микрофлора сырной слизи и плесени в сыроделии.
6. Бактериофаги в сыроделии.
7. Микробиологические процессы при производстве твердых сыров с высокой и низкой температурой второго нагревания.
8. Организация микробиологического контроля по ходу технологического процесса производства сыра.

### РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА И ИНТЕРНЕТ-ИСТОЧНИКИ

1. Билетова, Н. В. Санитарная микробиология / Н. В. Билетова, Р. П. Корнелаева, Л. Г. Кострикина [и др.]. — М. : Пищевая промышленность, 1980. — 352 с.
2. Ганина, В. И. Производственный контроль молочной продукции : учебник / В. И. Ганина, Л. А. Борисова, В. В. Морозова. — М. : ИНФРА-М, 2016. — 248 с.
3. Гудков, А. В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты / А. В. Гудков ; под ред. С. А. Гудкова. — М. : ДеЛи принт, 2004. — 804 с.
4. Капленко, А. Н. Рассольные сыры : монография / А. Н. Капленко, И. А. Евдокимов, Н. Н. Капленко. — М. : Изд-во ООО «Агентство подписки и продвижения „Алеф Принт“», 2015. — 236 с.
5. Лях, В. Я. Справочник сыродела / В. Я. Лях, И. А. Шергина, Т. Н. Садовая. — СПб. : Профессия, 2011. — 680 с.
6. Мюнх, Г.-Д. Микробиология продуктов животного происхождения / Г.-Д. Мюнх, Х. Заупе, М. Шрайтер [и др.] ; пер. с нем. Е. Г. Токаря. — М. : Агропромиздат, 1985. — С. 45–75.

7. Справочник технолога молочного производства. Технология и рецептуры. Т. 6. Сыры / под ред. Г. Г. Шиллера. — СПб. : ГИОРД, 2003. — 503 с.
8. Сорокина, Н. П. О фаговой ситуации на молокоперерабатывающих предприятиях. [Электронный источник] /<http://www.milkbranch.ru/publ/view/247.html>.
9. Степаненко, П. П. Микробиология молока и молочных продуктов : учебник. — Сергиев Посад : Все для Вас — Подмосковье, 2002. — 415 с. //[http://mppnik.ru/load/molochnaja\\_promyshlennost/stepanenko\\_p\\_p\\_mikrobiologija\\_moloka\\_i\\_molochnykh\\_produktoov/5-1-0-110](http://mppnik.ru/load/molochnaja_promyshlennost/stepanenko_p_p_mikrobiologija_moloka_i_molochnykh_produktoov/5-1-0-110).
10. Крूसь, Г. Н. Технология молока и молочных продуктов : учебник / Г. Н. Крूसь, А. Г. Храпцов, З. В. Волокитина [и др.] ; под ред. А. М. Шалыгиной. — М : КолосС, 2004. — 456 с.

## 10. МИКРОБИОЛОГИЯ МАСЛА И ВТОРИЧНОГО МОЛОЧНОГО СЫРЬЯ

### 10.1. ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ МАСЛА

**Второстепенная (подчиненная) роль микроорганизмов.** В большинстве видов масла любые микроорганизмы нежелательны, они снижают качество и вызывают пороки. Исключение — кисло-сливочное масло, в производстве которого используют закваску для обогащения вкуса и повышения стойкости при хранении.

Масло по химическому составу — неблагоприятная среда для развития микроорганизмов. Основной компонент — жир, не усваивается большинством микроорганизмов, так как для этого нужны ферменты — липазы, а обладающие такими ферментами бактерии нуждаются также в углеводах и белках, поэтому развиваются в масле медленно. В масле мало воды с растворенными питательными веществами, а та, которая есть (плазмы около 15%), распределяется в виде мелких капель диаметром 1–10 мкм (т. е. некоторые капли меньше размеров микроорганизмов).

Таким образом, состав и свойства масла не способствуют микробиологическим процессам, следовательно, особое внимание нужно обратить на первичную обсемененность и условия хранения.

### 10.2. ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МАСЛА И ЕГО СТОЙКОСТЬ ПРИ ХРАНЕНИИ

Рост и биохимическая активность микроорганизмов в значительной степени определяют качество масла. Основные факторы, влияющие на формирование и развитие микрофлоры масла, показаны на рисунке 10.1 и описаны ниже.

**Сырье.** Сливки в значительной степени обсеменены разнообразной микрофлорой, КМАФАнМ достигает  $10^5$ – $10^7$  КОЕ в  $1 \text{ см}^3$ . Поэтому пастеризация проводится при более жестких, чем для молока, режимах; остаются споровые и термостойкие микрококки. При созревании сливок создаются благоприятные условия для развития остаточной и попавшей с оборудования микрофлоры. Особенно интенсивно размножаются психрофильные микроорганизмы, такие как флюоресцирующая палочка, которая выделяет протеолитические и липолитические ферменты.

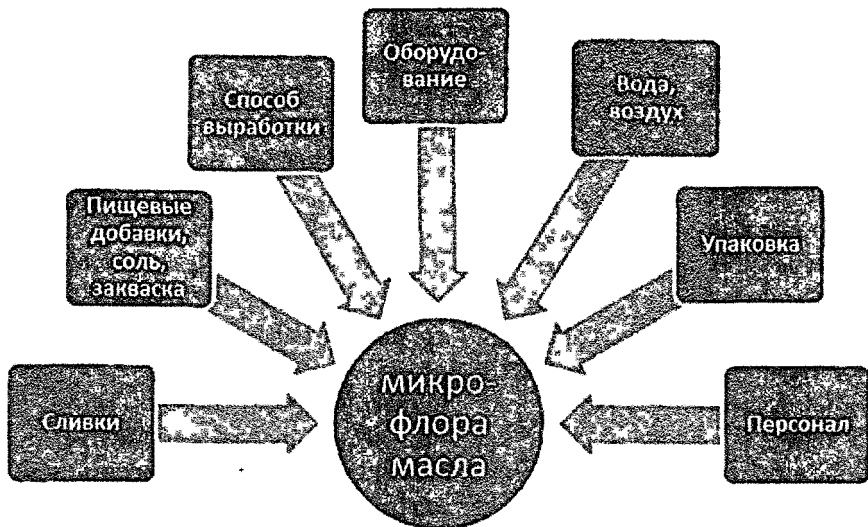


Рис. 10.1

Факторы, определяющие микробиологические показатели масла

Пищевые добавки (красители, ароматизаторы, подсластители, какао, сахар и др.) должны соответствовать требованиям стандартов, с ними возможно внесение дрожжей, БГКП, протеолитических бактерий, плесеней.

**Способ выработки** масла влияет на диспергирование влаги и обсеменение микроорганизмами в процессе выработки. Наиболее «чистый» в микробиологическом отношении способ — преобразование высокожирных сливок, так как процесс проводится в закрытых аппаратах, которые удобно мыть и дезинфицировать. Высокая температура второго сепарирования и низкие температуры обработки масляного зерна также не способствуют развитию микрофлоры. На втором месте — сбивание в маслоизготовителях непрерывного действия. При сбивании в маслоизготовителях периодического действия создаются наиболее благоприятные условия для обсеменения масла микрофлорой.

**Содержание влаги.** Плазма распределена в масле в виде капель микроскопической величины (1–10 мкм), которых в 1 г масла содержится несколько миллиардов. Чем меньше влаги в масле и чем она лучше вработана в масло, тем меньше условий для развития микрофлоры. В мельчайших капельках воды, обсемененных микроорганизмами, создаются неблагоприятные условия для их развития (недостаток питательных веществ, отсутствие кислорода, пространственная ограниченность). Высокожирные сорта масла лучше хранятся. Чем выше содержание влаги, тем более благоприятные условия для развития микроорганизмов, поэтому в низкожирных сортах масла особенно важно соблюдать требования к качеству сливок и условиям производства.

**Санитарно-гигиенические условия.** Кроме соблюдения всех правил санитарии и гигиены, обязательных на молочном предприятии, при производстве масла следует обратить особое внимание на следующие моменты:

- мойка и дезинфекция оборудования;
- качество воды, особенно для промывания зерна;
- качество воздуха (особенно по содержанию плесеней).

**Упаковка** (пергамент, фольга и др.) должна отвечать требованиям по микробиологическим показателям (на 100 см<sup>2</sup> поверхности БГКП должны отсутствовать плесени не более 5 КОЕ/г). Необходимо оставлять между продуктом и упаковочным материалом как можно меньше воздуха.

**Температура хранения** должна быть низкой. При температуре хранения менее -10°C развитие микроорганизмов прекращается. Если масло необходимо хранить при температурах выше 0°C, то вырабатывают соленое или сливочное масло.

**Добавление соли** как консервирующего фактора. Соленое масло лучше хранится при температурах выше 0°C, чем несоленое. В соли КМАФАНМ не должно быть больше 100 КОЕ/г. Для уничтожения микроорганизмов применяют прокалывание или растворение в кипящей воде.

**Внесение закваски** — биологический метод защиты масла. Состав закваски: гомоферментативные мезофильные лактококки и ароматообразующие микроорганизмы (биовариант молочного лактококка, образующий диацетил, лейконостоки). На формирование вкуса и аромата масла влияют температура и продолжительность сквашивания сливок: оптимальной считается температура 23–25°C, сквашивание должно проводиться до pH 5.

### 10.3. ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОФЛОРЫ МАСЛА В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ

**Микрофлора сладко-сливочного масла** состоит из остаточной микрофлоры сливок после пастеризации и микроорганизмов, попадающих в масло в процессе выработки. Она представлена молочнокислыми бактериями, микроскопическими грибами, спорообразующими бактериями родов *Bacillus* и *Clostridium*, психрофильными бактериями рода *Pseudomonas* и др. Количество микроорганизмов в масле должно составлять от нескольких сотен до 10<sup>5</sup> КОЕ в 1 г.

*В процессе хранения сладко-сливочного масла в условиях высокой температуры (15°C и выше) возрастает содержание микроорганизмов, максимальное их количество достигает через 5 дней. При дальнейшем хранении количество микроорганизмов может снижаться.*

*При хранении масла при низких положительных температурах (до 5°C) повышение количества микроорганизмов в масле происходит в основном за счет развития психрофильных протеолитических бактерий, микрококков, дрожжей, микроскопических грибов.*

*Хранение сладко-сливочного масла при низких отрицательных температурах (ниже -11°C) приводит к прекращению микробиологических процессов и отмиранию микроорганизмов в масле.*

**Микрофлора кисло-сливочного масла** состоит в основном из микрофлоры закваски. Закваска для кисло-сливочного масла содержит кислотообразующие лактококки *Lac. lactis*, *Lac. cremoris*, а также ароматообразующие лактококки *Lac. lactis subsp. diacetilactis*.

При хранении кисло-сливочного масла независимо от температуры хранения происходит отмирание заквасочной микрофлоры. При температуре 15°C этот процесс протекает быстрее, чем при более низких температурах. При хранении масла в условиях низких отрицательных температур (ниже -11°C) через 6-9 мес. отмирает 95-98% молочнокислых бактерий.

## 10.4. ПОРОКИ МАСЛА И МЕРЫ ИХ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Пороки могут быть обнаружены как в свежеработанном масле, так и в масле, находящемся на хранении. В таблице 10.1 приведены пороки, вызываемые микрофлорой и меры их предупреждения.

Таблица 10.1

**Пороки сливочного масла**

Название, сущность	Причина	Меры предупреждения
Штафф — появление желтого прозрачного слоя на поверхности, сопровождается появлением неприятного привкуса и запаха, связан с окислением жира	Аэробная поверхностная микрофлора — флюоресцирующая палочка, гнилостные бактерии, дрожжи, плесени. Воздействие кислорода	Герметичная упаковка, низкие температуры хранения
Прогоркание (гидролиз молочного жира с дальнейшим окислением глицина и жирных кислот до альдегидов и кетонов)	Липолитические микроорганизмы, в том числе молочная плесень, флюоресцирующая палочка, бактерии рода <i>Pseudomonas</i> и др.	Пастеризация сливок при 85°C и более, соблюдение условий производства и хранения
Кислый вкус (или излишне кислый для кисло-сливочного масла)	Молочнокислые микроорганизмы, в кисло-сливочном перебивании	Соблюдение режимов пастеризации, сквашивания (кисло-сливочное масло) и хранения
Нечистый вкус, затхлый, гнилостный, неприятные запахи	БГКП, протеолитические микроорганизмы	Предупреждение обсеменения сливок, соблюдение режимов пастеризации, норм гигиены и санитарии
Горький вкус (распад белка до пептонов), гнилостный привкус (более глубокий)	Протеолитические микроорганизмы (споровые гнилостные, флюоресцирующая палочка, микрококки). Плохо вработанная в масло влага	Хранение при температурах ниже 0°C

Название, сущность	Причина	Меры предупреждения
Плесневение (изменение внешнего вида, запаха и вкуса, разложение жира и белка)	Плесени рода <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Mycor</i> , <i>Geotrichum candidum</i> и др.	Предупреждение обсеменения сливок плесенью из воздуха, с оборудования, упаковки, качественная вработка влаги, герметичная упаковка, соблюдение условий хранения

## 10.5. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПРОИЗВОДСТВА МАСЛА

Основные критические контрольные точки при производстве сливочного масла: молоко-сырье, сливки-сырье, пастеризация сливок-сырья и смеси, способ производства, фасование, готовый продукт, хранение.

**Молоко-сырье.** Молоко-сырье, используемое для получения масла, должно соответствовать общим требованиям безопасности и качества молока-сырья. Для маслоделия не существует специфических критериев безопасности и качества для молока-сырья. При появлении пороков масла — горький, прогорклый, гниlostный или сырный вкус — рекомендуется проводить усиленный контроль молока-сырья на содержание психротрофных микроорганизмов.

**Сливки-сырье.** Для сливок-сырья наиболее значимыми следует считать критерии: продолжительность и температура хранения до пастеризации (резервирование). Сливки-сырье целесообразно пастеризовать без резервирования, а в случае необходимости сливки с кислотностью не более 19°Т допускается хранить при температуре  $4 \pm 1^\circ\text{C}$  не более 24 ч.

**Пастеризация.** В маслоделии принято использовать высокотемпературную пастеризацию как сливок-сырья, так и смеси для производства сливочного масла. Оптимальной для обеспечения микробиологической чистоты продукта является температура пастеризации  $95\text{--}98^\circ\text{C}$  без выдержки. Пастеризованные сливки допускается хранить при температуре  $4 \pm 1^\circ\text{C}$  не более 72 ч.

**Метод производства сливочного масла.** При выборе метода производства необходимо учитывать микробиологические показатели сырья и санитарно-гигиенические условия производства. Наиболее безопасным, с точки зрения возможности вторичного обсеменения, следует считать получение масла методом преобразования высокожирных сливок. Данный метод производства обеспечивает большую дисперсность плазмы, что снижает вероятность развития микрофлоры в процессе хранения масла.

**Фасование.** Фасование сливочного масла порциями из монолита увеличивает вторичное обсеменение продукта в среднем на порядок. В целях повы-

шения гарантии микробиологической безопасности целесообразно фасовать сливочное масло потребительскими порциями сразу после его изготовления.

**Готовый продукт.** В условиях производственной лаборатории контролю подлежит каждая партия готового продукта. Микробиологические показатели, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля сливочного масла представлены в таблице 10.2. Содержание молочнокислых микроорганизмов в кисло-сливочном должно быть не менее  $10^6$  КОЕ/г, в том числе не менее 70% цитратсбраживающих ароматообразующих микроорганизмов.

Таблица 10.2

**Микробиологические показатели сливочного масла, подлежащие контролю в готовом продукте в условиях производственной лаборатории**

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
<b>Масло сливочное сладко-сливочное без компонентов</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \times 10^5$	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	Каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	В сумме	Не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более		
<b>Масло сливочное сладко-сливочное с компонентами</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \times 10^5$	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	Каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	Не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100	Не реже 2 раз в месяц
<b>Масло сливочное кисло-сливочное*</b>		
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	Каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	В сумме	Не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более		
<b>Масло сливочное марочное, в том числе Вологодское</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \times 10^4$	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	Каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50	Не реже 2 раз в месяц

*Примечание.* \* Мезофильная аэробная и факультативно-анаэробная микрофлора в кисло-сливочном масле и пастах масляных кисло-сливочных представлена микрофлорой закваски.

Контроль молочнокислых микроорганизмов в кисло-сливочном масле в случае появления порока «не выраженный кисломолочный вкус» рекомендуется проводить в каждой партии до выявления причин и их устранения.

**Хранение.** Сливочное масло должно храниться в температурном диапазоне от  $-25$  до  $5^\circ\text{C}$ .

## 10.6. МИКРОФЛОРА ВТОРИЧНОГО МОЛОЧНОГО СЫРЬЯ И ПРОДУКТОВ ИЗ НЕГО

Промышленная переработка молока связана с получением значительного количества вторичного молочного сырья — сыворотки, обезжиренного молока, пахты, которые являются хорошей питательной средой для развития микроорганизмов. В них быстро размножаются различные группы микробов, происхождение которых связано с остаточной, термостойкой и термофильной микрофлорой пастеризованного молока, микрофлорой заквасок, а также вторичным обсеменением с оборудования.

Техническим регламентом Таможенного союза № 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013) предусмотрено довольно жесткое нормирование основных микробиологических показателей продуктов переработки вторичного молочного сырья (табл. 10.3).

Таблица 10.3

**Допустимые уровни содержания микроорганизмов  
в продуктах переработки молока при выпуске их в обращение**

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup> (г), не более	Масса продукта (г, см <sup>3</sup> ), в которой не допускаются				
		БГКП (коли-формы)	сальмонеллы	стафилококки <i>S. aureus</i>	листерии <i>L. monocytogenes</i>	дрожжи (Д), плесени (П), КОЕ/см <sup>3</sup> (г), не более
Молочная сыворотка и пахта пастеризованные в потребительской таре	1×10 <sup>5</sup>	0,01	25	1	25	—
Сыворотка молочная сухая	1×10 <sup>5</sup>	0,1	25	1,0	25	Д-50 П-100
Пахта, заменитель цельного молока (сухие)	1×10 <sup>4</sup>	0,1	25	1,0	—	Д-50 П-100
Напитки, желе, коктейли, суфле, кисели, соусы, кремы, пудинги, муссы, пасты, произведенные на основе пахты, сыворотки пастеризованные	1×10 <sup>5</sup>	0,1	25	1	25	—
Пахта, сыворотка сгущенные без сахара и с сахаром	5·10 <sup>4</sup>	1,0	25	—	—	—

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup> (г), не более	Масса продукта (г, см <sup>3</sup> ), в которой не допускаются				
		БГКП (коли-формы)	сальмонеллы	стафилококки <i>S. aureus</i>	листерии <i>L. monocytogenes</i>	дрожжи (Д), плесени (П), КОЕ/см <sup>3</sup> (г), не более
Концентрат сывороточный белковый	5·10 <sup>4</sup>	1,0	25	0,1	—	—

Исследования кислотообразующей способности мезофильной и термофильной остаточной микрофлоры разных видов вторичного молочного сырья показали, что наиболее опасной является остаточная термофильная микрофлора сыворотки.

**Микрофлора молочной сыворотки.** Общие операции обработки молока при получении молочной сыворотки, а также переработки ее в сухие продукты способствуют формированию строго определенного круга остаточной микрофлоры, отличающейся повышенной устойчивостью к различным неблагоприятным факторам среды, в том числе к высокой температуре, изменению кислотности, низкому содержанию влаги. Для вторичного молочного сырья характерны кокки в разных сочетаниях, в том числе в виде цепочек (*Str. thermophilus*, энтерококки, *Microbacterium lacticum*). В сухих продуктах лучше сохраняются и получают преимущества в развитии споробразующие палочки.

К наиболее типичным группам и видам микроорганизмов, которые встречаются в сыворотке на всех этапах ее переработки и могут сохраняться в готовых продуктах в течение длительного времени, относится термоустойчивая микрофлора, которая может попадать в сыворотку из молока, выдерживая температуру пастеризации, а также с оборудования, на поверхности которого способна накапливаться. Причиной термоустойчивости является, как правило, способность к образованию покоящихся форм.

При производстве продуктов из сыворотки применяют пастеризацию при температуре 65±2°C с выдержкой 30 мин или 72±2°C с выдержкой 20 с. К микрофлоре, выдерживающей температуры пастеризации, относят термоустойчивые молочнокислые палочки. Эти неспорообразующие микроорганизмы могут выдерживать кратковременное нагревание в молоке до 85–90°C, иногда выше, что является их важным отличием от других видов термофильных молочнокислых палочек. В то же время идентификация этих технически важных бактерий пока не проведена.

Такой же способностью обладают спорообразующие палочки рода *Bacillus*, доля которых в общем составе микрофлоры меняется: от 10% в свежей сыворотке до 30% в пастеризованной, в сухих продуктах из сыворотки — от 7 до 66% (в зависимости от метода обработки и срока хранения). Из-за активных протеолитических свойств *Bacillus* относятся к группе технически вредных микроорганизмов, способных вызывать пороки продукции, связанные с распадом белка: горький вкус, неприятный привкус и запах, неоднородная консистенция.

Гораздо более удивительна способность к выживанию при пастеризации у кокковых форм микроорганизмов. В литературе встречаются упоминания о термоустойчивых кокках, относящихся к энтерококкам или микрококкам. К таким микроорганизмам относится и *Acinetobacter calcoaceticus*. С точки зрения возникновения пороков молочной продукции вид *Acinetobacter calcoaceticus* не представляет опасности, так как медленно развивается в молоке. В то же время следует учитывать его способность быстро расти на МПА (следовательно, влиять на показатель КМАФАнМ).

*Микрофлора свежей подсырной сыворотки* в основном представлена молочнокислыми микроорганизмами кокковых форм и дрожжами, КМАФАнМ находится в пределах  $(1,3 \pm 0,2) \cdot 10^4$  КОЕ/см<sup>3</sup>, поэтому принятые в отрасли режимы пастеризации полностью обеспечивают соответствие нормам ТР ТС.

*Микрофлора творожной сыворотки* зависит от качества сырья, используемого для производства творога, способа выработки творога (традиционным или раздельным) и применяемого оборудования (в ваннах или на механизированных линиях), условий ее хранения и режимов термообработки. Показатель КМАФАнМ в образцах творожной сыворотки изменяется в течение года в пределах  $(1,5 - 5,5) \cdot 10^4$  КОЕ/см<sup>3</sup>.

Состав микрофлоры творожной сыворотки, полученной разными способами, может отличаться. В сыворотке присутствует характерная заквасочная микрофлора, а также может обнаруживаться посторонняя, например, термоустойчивые зернистые палочки, которые остаются и после пастеризации.

Необходимо подчеркнуть, что в молочной сыворотке (жидкой и сухой) содержатся бактериофаги, отрицательно влияющие на процессы ферментации кисломолочной продукции, в рецептурах которой применяется сыворотка.

*Микрофлора сухих продуктов из молочной сыворотки.* Состав микрофлоры разных видов сыворотки существенно отличается. Микрофлора сухой творожной сыворотки в основном представлена палочковидной неспорообразующей микрофлорой (81%), микрофлора сухой подсырной сыворотки — в основном кокковой микрофлорой (88%), а споровые палочки составляют 3–5% от всей микрофлоры.

Типичные споровые микроорганизмы, встречающиеся в сгущенных и сухих сывороточных концентратах, по совокупности свойств наиболее близки видам: *Bacillus filamentosus*, *Bacillus subregosus*, *Bacillus subtilis*.

На микробиологическую обсемененность продуктов из молочной сыворотки в наибольшей степени влияют:

- вид сыворотки и способ ее выработки;
- режимы хранения сыворотки и полуфабрикатов (необходимо охлаждение до 10°C, продолжительность хранения — не более 24 ч);
- режимы тепловой обработки;
- условия хранения готовой продукции;
- способ и материалы для упаковки (важна герметичная упаковка);
- условия мойки и дезинфекции.

**Микрофлора обезжиренного молока.** Количественный и качественный состав микрофлоры обезжиренного молока определяются исходным молоком, поступающим на предприятие, условиями сепарирования и санитарным состоянием используемого оборудования. Остаточная микрофлора пастеризованного молока представлена спорообразующими бациллами, клостридиями, термостойкими молочнокислыми бактериями, энтерококками, бактериофагами и др.

После вторичного обсеменения помимо остаточной микрофлоры в обезжиренном молоке могут обнаруживаться молочнокислые стрептококки и палочки, БГКП, стафилококки и другие микрококки, гнилостная неспорообразующая микрофлора, споры дрожжей, плесеней. В связи с обсеменением обезжиренного молока его сразу после получения необходимо направлять на промышленную переработку. Разрешается хранение пастеризованного обезжиренного молока до переработки не более 36 ч.

Исследования микробиологических показателей сухих продуктов, полученных из обезжиренного молока, показали, что для сухого обезжиренного молока (СОМ) характерны 4 основных морфологических разновидностей аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, соотношение между которыми зависит от состава микрофлоры исходного сырья. Большая часть микрофлоры (45%) готового продукта представлена микроорганизмами в виде кокков в разных сочетаниях (чаще всего диплококков), на втором месте — зернистые и незернистые неспорообразующие палочки, на долю которых приходится 41%; по 7% приходится на сарцины и спорообразующие палочки. При хранении СОМ в течение года КМАФАнМ снижается на 2 порядка, при этом доля спорообразующих палочек, наиболее устойчивых к низкому содержанию влаги, увеличивается.

Анализ микробиологических показателей сухих молочных продуктов показал, что диапазон изменения КМАФАнМ составил: в сухом обезжиренном молоке  $(4,3 \pm 2,5) \cdot 10^4$  КОЕ/г, сухой подсырной сыворотке  $1,6 \cdot 10^2 - 7,0 \cdot 10^4$  КОЕ/г, сухой творожной сыворотке  $1,0 \cdot 10^2 - 9,6 \cdot 10^4$  КОЕ/г. БГКП, количество дрожжей и плесеней не превышало нормируемых показателей.

**Микрофлора пахты.** Состав и свойства пахты зависят от метода производства и вида вырабатываемого масла, особенно они различаются при выработке сладко- и кисло-сливочного масла. Количественный и качественный состав пахты представлен спорообразующими и термоустойчивыми микроорганизмами, а также микрофлорой вторичного (после пастеризации сливок) обсеменения — молочнокислыми бактериями, БГКП, энтерококками, гнилостными

микроорганизмами. Пахта не должна содержать патогенных микроорганизмов, в том числе и сальмонелл, в  $25 \text{ см}^3$ .

Для предотвращения пороков готовой продукции, вызываемой термоустойчивой палочковидной микрофлорой, необходимо при производстве кисломолочных продуктов на основе вторичного молочного сырья подбирать заквасочную микрофлору с повышенной антибиотической активностью и применять для мойки и дезинфекции оборудования вещества, способные уничтожать данный вид микроорганизмов.

## 10.7. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПРОДУКТОВ ИЗ ВТОРИЧНОГО МОЛОЧНОГО СЫРЬЯ

Микробиологические показатели, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля некоторых продуктов из вторичного молочного сырья представлены в таблице 10.4.

Таблица 10.4

**Микробиологические показатели продуктов из вторичного молочного сырья**

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
<b>Напитки, коктейли, кисели молочные и сливочные, из пахты и сыворотки, желе, соусы, кремы, пудинги, муссы, пасты, суфле молочные, сливочные, из пахты и сыворотки, пастеризованные</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/ $\text{см}^3$ , не более	$10^5$	Не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, $\text{см}^3$	0,1	Каждая партия
<b>Продукты из пахты</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/ $\text{см}^3$ , не более	$10^5$	Не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, $\text{см}^3$	0,01	Каждая партия
<b>Продукты из сыворотки</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/ $\text{см}^3$ , не более	$10^5$	Не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, $\text{см}^3$	0,01	Каждая партия
<b>Ферментированные жидкие продукты из пахты со сроками годности не более 72 ч</b>		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/ $\text{см}^3$ , не менее	$10^7$	Не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, $\text{см}^3$	0,01	Каждая партия
<b>Ферментированные жидкие продукты из пахты со сроками годности более 72 ч</b>		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/ $\text{см}^3$ , не менее	$10^7$	Не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, $\text{см}^3$	0,1	Каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/ $\text{см}^3$ , не более	50	Не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/ $\text{см}^3$ , не более	50	Не реже 2 раз в месяц

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
<b>Ферментированные жидкие продукты из сыворотки со сроками годности не более 72 ч</b>		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/см <sup>3</sup> , не менее	10 <sup>7</sup>	Не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см <sup>3</sup>	0,01	Каждая партия
<b>Ферментированные жидкие продукты из сыворотки со сроками годности более 72 ч</b>		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/см <sup>3</sup> , не менее	10 <sup>7</sup>	Не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см <sup>3</sup>	0,1	Каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/см <sup>3</sup> , не более	50	Не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/см <sup>3</sup> , не более	50	Не реже 2 раз в месяц
<b>Сгущенные продукты из пахты</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	5×10 <sup>4</sup>	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1,0	Каждая партия
<b>Сгущенная сыворотка</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	5×10 <sup>4</sup>	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1,0	Каждая партия
<b>Сухие продукты из пахты</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	5×10 <sup>4</sup>	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	Каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	Не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	50	Не реже 2 раз в месяц
<b>Сыворотка молочная сухая</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	5×10 <sup>4</sup>	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	Каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	Не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	50	Не реже 2 раз в месяц
<b>Обезжиренное молоко, заменитель цельного молока, сухие</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	5×10 <sup>4</sup>	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	Каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	Не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	50	Не реже 2 раз в месяц

## ВЫВОДЫ

1. Интенсивность развития микрофлоры в сливочном масле зависит от дисперсности водно-молочной фазы и жировой эмульсии, рН водно-молочной фазы, эффективности пастеризации сливок, способа выработки и упаковки масла, санитарно-гигиенических условий производства, температуры хранения.

2. К основным критическим контрольным точкам при производстве сливочного масла относятся: молоко-сырье, сливки-сырье, пастеризация сливок-сырья и смеси, метод производства, фасование, готовый продукт, хранение. Чем выше содержание влаги, тем более благоприятные условия для развития микроорганизмов, поэтому в низкожирных сортах масла особенно важно соблюдать требования к качеству сливок и условиям производства.

3. В сливочном масле, выработанном способом преобразования высокожирных сливок и методом сбивания в маслоизготовителях непрерывного действия, содержится меньшее количество микроорганизмов.

4. Вторичное молочное сырье является хорошей питательной средой для развития микроорганизмов. В нем быстро размножаются различные группы микробов, происхождение которых связано с остаточной, термостойкой и термофильной микрофлорой пастеризованного молока, микрофлорой заквасок, а также вторичным обсеменением с оборудования.

## ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

### БАЗОВЫЙ УРОВЕНЬ

1. В чем особенность микробиологических процессов при производстве сливочного масла?
2. Какие факторы влияют на микробиологические показатели масла?
3. Почему соленое масло хранится лучше, чем несоленое?
4. Состав заквасочной микрофлоры при производстве кисло-сливочного масла.
5. Изменение микрофлоры в процессе хранения кисло-сливочного масла.
6. Какая остаточная микрофлора вторичного молочного сырья наиболее опасная?
7. Микрофлора обезжиренного молока.
8. Микрофлора пахты.

### ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ

1. Микробиологические процессы при созревании сливок.
2. Влияние способа производства на уровень бактериальной обсемененности масла?
3. Микрофлора сладко-сливочного масла и ее изменение в процессе хранения.
4. Пороки масла. Причины возникновения и меры предупреждения.
5. Основные критические контрольные точки при производстве сливочного масла.
6. Какая микрофлора присутствует в молочной сыворотке?
7. Микрофлора сухих продуктов из вторичного молочного сырья.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА И ИНТЕРНЕТ-ИСТОЧНИКИ

1. Билетова, Н. В. Санитарная микробиология / Н. В. Билетова, Р. П. Корнелаева, Л. Г. Кострикина [и др.]. — М. : Пищевая промышленность, 1980. — 352 с.
2. Ганина, В. И. Производственный контроль молочной продукции : учебник / В. И. Ганина, Л. А. Борисова, В. В. Морозова. — М. : ИНФРА-М, 2016. — 248 с.
3. Гетман, Ю. Г. Микрофлора бифидогенных концентратов из вторичного молочного сырья / Ю. Г. Гетман, С. А. Рябцева // Молочная промышленность. — 2007. — № 11.
4. Рябцева, С. А. Изменение микробиологических показателей сыворотки в процессе переработки / С. А. Рябцева, С. А. Емельянов, Ю. Г. Гетман [и др.] // Молочная промышленность. — 2006. — № 6.
5. Королева, Н. С. Санитарная микробиология молока и молочных продуктов / Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. — М. : Пищевая промышленность, 1980. — 256 с.
6. Кузнецова, О. В. Микрофлора вторичного молочного сырья / О. В. Кузнецова, С. А. Рябцева // Переработка молока. — 2008. — № 3.
7. Мюнх, Г.-Д. Микробиология продуктов животного происхождения / Г.-Д. Мюнх, Х. Заупе, М. Шрайтер [и др.]; пер. с нем. Е. Г. Токаря. — М. : Агропромиздат, 1985. — С. 45–75.
8. Степаненко, П. П. Микробиология молока и молочных продуктов : учебник. — Сергиев Посад : Все для Вас — Подмоскowie, 2002. — 415 с. // [http://mppnik.ru/load/molochnaja\\_promyshlennost/stepanenko\\_p\\_p\\_mikrobiologija\\_moloka\\_i\\_molochnykh\\_produktoy/5-1-0-110](http://mppnik.ru/load/molochnaja_promyshlennost/stepanenko_p_p_mikrobiologija_moloka_i_molochnykh_produktoy/5-1-0-110).

# 11. МИКРОБИОЛОГИЯ МОЛОЧНЫХ КОНСЕРВОВ И МОРОЖЕНОГО

## 11.1. ПРИНЦИПЫ КОНСЕРВИРОВАНИЯ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

**Консервирование** — обработка молочных продуктов с целью сохранения их качества в течение длительного времени без разложения компонентов и изменения свойств.

Изменение свойств (порча) пищевых продуктов чаще всего вызывается действием микроорганизмов (разложение белка — гниение; жира — липолиз; углеводов, сопровождается изменением запаха, цвета, вкуса, консистенции и т. п.). Следовательно, нужно создать условия, при которых микроорганизмы не развиваются.

Способы консервирования основаны на биологических принципах абиоза и анабиоза.

**Абиоз** — полное прекращение жизнедеятельности микроорганизмов путем их уничтожения, т. е. стерилизация:

— тепловая стерилизация (наиболее распространена в молочной промышленности, молоко при температуре выше 100°C, от 107 до 150°C);

— лучевая (облучение тары, воздуха, поверхности стен и т. п. ультрафиолетом);

— радиационная — применение ионизирующих излучений (в молочной промышленности применение ограничено);

— химическая — применение антисептиков и антибиотиков (сорбиновой кислоты, низина в сгущенных консервах с сахаром, комбинация с осмоанабиозом);

— механическая — фильтрация через мембраны с фильтрами, размер пор которых меньше размеров микроорганизмов (микрофильтрация), бактофугирование.

**Анабиоз** — подавление (замедление) жизнедеятельности микроорганизмов разными методами:

— замораживание (криоанабиоз);

— понижение температуры (психроанабиоз);

— высушивание (ксероанабиоз);

— повышение осмотического давления (осмоанабиоз);

— хранение в среде кислорода, азота, углекислого газа (наркоанабиоз);

— использование полезной микрофлоры, подавляющей развитие вредной (ценоанабиоз).

По принципам консервирования молочные консервы разделяют на три основные группы: стерилизованные (абиоз); сгущенные с сахаром (осмоанабиоз); сухие (ксероанабиоз).

## 11.2. МИКРОБИОЛОГИЯ СТЕРИЛИЗОВАННЫХ МОЛОЧНЫХ КОНСЕРВОВ

Среди этой группы консервированных молочных продуктов наибольшее распространение получило сгущенное стерилизованное молоко. Оно вырабатывается 2 способами:

— *путем ультравысокотемпературной (УВТ) обработки сгущенного молока с последующей асептической закаткой в банки.* При этом способе производства размножение сохранившихся спорообразующих бактерий может происходить на участке накопления молока между УВТ-установкой и розливом, если оно находилось при повышенной температуре. Это в первую очередь термофильные спорообразующие *Bac. stearothermophilus*, способные размножаться при 50–55°C;

— *путем розлива подготовленного сгущенного молока в жестяные банки с последующей их закаткой и стерилизацией.* Стерилизация сгущенного молока в жестяных банках приводит к уничтожению почти всех вегетативных клеток. Единичные споры могут оказаться в отдельных банках вследствие неравномерного их прогрева в процессе стерилизации при малейших нарушениях режимов. Могут выжить в молоке после стерилизации споры бацилл: *Bac. subtilis*, *Bac. megatherium*, *Bac. cereus*, *Bac. coagulans*, *Bac. circulans*, *Bac. licheniformis* и др.

Микробиологические аспекты технологии стерилизованных сгущенных консервов на примере стерилизованного сгущенного молока представлены в таблице 11.1.

Таблица 11.1

**Микробиологические аспекты технологии  
стерилизованного сгущенного молока**

Процесс	Микробиологический аспект
Приемка сырья	Предъявляются особые требования к качеству, в том числе: — по общей бактериальной обсемененности по редуцтазной пробе не ниже 1 класса; — количество спор не более 100 в 1 см <sup>3</sup>
Очистка (центрифугирование)	Удаление части микроорганизмов с загрязнителями, дробление скоплений микроорганизмов
Нормализация	Возможно обсеменение при неудовлетворительной мойке
Пастеризация при $t = 95^\circ\text{C}$	Уничтожение вегетативной микрофлоры. В пастеризованном молоке общее количество бактерий должно быть не более $5 \times 10^3$ КОЕ/1 см <sup>3</sup>
Сгущение под вакуумом (55°C)	Возможно размножение термофильных микроорганизмов. В сгущенном молоке перед стерилизацией общее количество бактерий должно быть не более $10^4$ КОЕ/1 см <sup>3</sup> . Количество спор не более 10 в 1 см <sup>3</sup>

Процесс	Микробиологический аспект
Гомогенизация, донормализация	Возможно обсеменение в резервуарах
УВТ-обработка (прямая, косвенная) $t = 135-150^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 4-8$ с	Уничтожение всей микрофлоры
Охлаждение, розлив, упаковка или розлив в жестяные банки, закатка	Опасный момент, возможно обсеменение
Стерилизация $t = 108-118^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 20$ мин	Уничтожение всей микрофлоры

Основные критические точки контроля производства: сырое молоко, пастеризованное молоко, молоко из емкости для хранения, нормализованное молоко, сгущенное молоко после вакуум-выпарного аппарата, из емкости перед фасовкой, сгущенное молоко из незакатанной банки, сгущенное молоко из закатанных банок перед стерилизацией.

В случае повышенного бактериального обсеменения сгущенного молока перед стерилизацией необходимо дополнительно проверить все стадии технологического процесса в целях выявления мест загрязнения.

Молоко сгущенное стерилизованное в банках должно удовлетворять требованиям промышленной стерильности и не содержать патогенных микроорганизмов или их токсинов.

Готовую продукцию отбирают от каждой партии в количестве 5 банок, проверяют на герметичность и отсутствие внешних дефектов, термостатируют при  $37^{\circ}\text{C}$  в течение 6 суток, осматривают, отбраковывают бомбажные (со вздутием крышки, не опадающим после нажатия пальцем). Банки без дефектов вскрывают, анализируют по органолептическим показателям (не должно происходить изменений после термостатирования), определяют титруемую кислотность (не более  $50^{\circ}\text{T}$ ), готовят микроскопический препарат (клетки и споры микробов не должны обнаруживаться).

### ПОРОКИ И ВОЗБУДИТЕЛИ ПОРОКОВ СТЕРИЛИЗОВАННЫХ СГУЩЕННЫХ КОНСЕРВОВ

Единичные клетки спорообразующих бактерий *Bac. subtilis*, *Bac. circulans*, *Bac. megaterium*, *Bac. stearothermophilus*, *Bac. coagulans*, *Bac. pumilis*, *Bac. cereus* и др., а также споры бактерий рода *Clostridium* могут выживать в молоке в процессе стерилизации при нарушениях режимов. При хранении готового продукта при благоприятных условиях споры могут прорасти и вызывать пороки готового продукта.

Сладкое свертывание, горечь вызывают *Bac. subtilis* при наличии в среде кислорода и при температуре хранения до  $37^{\circ}\text{C}$ ; при температуре хранения выше  $50^{\circ}\text{C}$  этот порок вызывают *Bac. stearothermophilus* (иногда появляется только горечь, без свертывания молока).

**Створаживание сгустка и образование газа** вызывают *Bac. megaterium* при наличии в среде кислорода и при температуре хранения до 37°C.

**Створаживание сгустка, бомбаж банок** вызывают анаэробные бактерии, маслянокислые бактерии рода *Clostridium* при нарушениях режимов стерилизации.

**Сырный привкус, свертывание** вызывают *Bac. coagulans* при наличии в среде кислорода и при температуре хранения до 37°C.

**Коагуляция на поверхности, образование токсинов.** Возбудители порчи *Bac. cereus*. Эти микроорганизмы вызывают пищевую токсикоинфекцию. Порок возникает при наличии в среде кислорода.

После вскрытия банок микрококки, энтерококки, стрептококки, БГКП, психротрофные бактерии, попавшие в молоко после термической обработки, также вызывают пороки в продукте.

Основные причины возникновения пороков сгущенного стерилизованного молока: нарушение режимов стерилизации, наличие в банках кислорода, повышенная температура хранения.

### 11.3. МИКРОБИОЛОГИЯ СГУЩЕННЫХ МОЛОЧНЫХ КОНСЕРВОВ

Особенностью производства этой группы продуктов (сгущенное молоко или сливки с сахаром, с какао, кофе и т. п.) является операция внесения сахара или сахарного сиропа, при которой возможно обсеменение дрожжами и другими микроорганизмами, способными вызывать пороки готовой продукции. Наиболее опасны осмофильные микроорганизмы (микрококки, отдельные виды дрожжей, плесени).

Микробиологические аспекты технологии сгущенных молочных консервов на примере сгущенного молока с сахаром приведены в таблице 11.2.

Таблица 11.2

**Микробиологические аспекты технологии  
сгущенного молока с сахаром**

Процесс	Микробиологический аспект
Приемка сырья	Споры бактерий <i>Bacillus</i> , термоустойчивые бактерии (микрококки, энтерококки)
Очистка (центрифугирование)	Удаление части микроорганизмов с загрязнителями, дробление скоплений микроорганизмов
Нормализация	Возможно обсеменение при неудовлетворительной мойке оборудования
Термообработка при $t = 95-120^{\circ}\text{C}$	Селективный отбор микроорганизмов: — при температуре $< 100^{\circ}\text{C}$ преимущество получают микрококки; — при температуре $> 100^{\circ}\text{C}$ — спорообразующие бактерии

Процесс	Микробиологический аспект
Смешивание с сиропом сахара при $t = 95^{\circ}\text{C}$	Вторичное обсеменение дрожжами при нарушениях температурных режимов приготовления сахарного сиропа и смешивания
Сгущение под вакуумом ( $t = 45\text{--}55^{\circ}\text{C}$ ) в 2,5 раза	Возможно размножение термофильных спорообразующих и неспорообразующих микроорганизмов (при повторном обсеменении)
Охлаждение в резервуаре или охладителе (кристаллизация лактозы)	Возможность дополнительного обсеменения
Розлив (в крупную или мелкую тару)	Возможность обсеменения из воздуха дрожжами, микрококками
Хранение, реализация	В первые 15–30 дней возможно размножение микрококков, дрожжей, в последующие дни — плесеней

По ходу технологического процесса отбирают пробы для микробиологического анализа в основных критических контрольных точках при производстве сгущенных продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки: сырье; пастеризация; сгущение; фасование; готовый продукт; хранение. Усиленной критической контрольной точкой является процесс сгущения.

Процесс сгущения проводят при режимах, обеспечивающих минимальную продолжительность операции сгущения. При увеличении длительности сгущения и ведении процесса на нижних температурных пределах возможно развитие термофильных микроорганизмов.

**Готовый продукт.** В условиях производственной лаборатории контролю подлежит каждая партия готового продукта. Микробиологические показатели, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля сгущенных продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки в условиях производственной лаборатории представлены в таблице 11.3.

Таблица 11.3

**Микробиологические показатели сгущенных продуктов, подлежащие контролю в готовом продукте**

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
<b>Молоко, сливки сгущенные с сахаром в потребительской таре</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$2 \times 10^4$	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1,0	Каждая партия
<b>Молоко, сливки сгущенные с сахаром в транспортной таре</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$4 \times 10^4$	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1,0	Каждая партия

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
<b>Какао, кофе натуральный со сгущенным молоком или сливки с сахаром</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$3,5 \times 10^4$	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1,0	Каждая партия
<b>Сгущенные продукты из пахты</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$5 \times 10^4$	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1,0	Каждая партия
<b>Сгущенная сыворотка</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$5 \times 10^4$	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1,0	Каждая партия
<b>Сгущенная деминерализованная сыворотка</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$5 \times 10^4$	Каждая партия
БГКП, не допускается в массе продукта, г	1,0	Каждая партия

**Хранение.** Сгущенные продукты должны храниться при температуре 0–10°C и относительной влажности воздуха не более 85%. Допускается изменение условий хранения сгущенных продуктов при совершенствовании технологического процесса.

Сохраняемость сгущенного молока с сахаром определяется соотношением  $C_z$ , которое вычисляют по формуле

$$C_z = \frac{\% \text{сах.}}{\% \text{сах.} + \% \text{H}_2\text{O}} \cdot 100, \% \quad (11.1)$$

где %сах. — массовая доля сахарозы.

Оптимальной считается величина  $C_z = 62,5\text{--}64\%$ . Снижение числа  $C_z$  улучшает условия для развития микроорганизмов, превышение приводит к кристаллизации сахарозы.

### ПОРОКИ И ВОЗБУДИТЕЛИ ПОРОКОВ СГУЩЕННЫХ МОЛОЧНЫХ КОНСЕРВОВ

**Горький вкус, коагуляция.** Возбудители порока термофильные спорообразующие бактерии. Порок возникает из-за высокой бактериальной обсемененности сырья и из-за длительного пребывания в вакуум-выпарном аппарате.

**Прогорклый и горький вкус, загустевание.** Возбудители порока микрококки, стафилококки, которые выживают при пастеризации и попадают в продукт при несоблюдении санитарно-гигиенических режимов производства. Размножаются в течение первых 1,5 мес. хранения, могут образовывать энтеротоксины. Горький вкус может возникнуть также в результате развития гнилостных бактерий.

**Бомбаж банок.** Возбудители порока осмофильные дрожжи. Размножаются наиболее интенсивно в первые 15–30 дней при неправильном режиме хранения продукта, затем отмирают.

**Плесневение, образование «пуговиц».** Возбудители порока плесени (например, шоколадно-коричневая плесень рода *Catenularia*), которые разви-

ваются при наличии кислорода на поверхности продукта или на внутренней поверхности крышки.

**БГКП сверх нормы.** БГКП обнаруживаются сразу после фасовки, затем отмирают.

## 11.4. МИКРОБИОЛОГИЯ СУХИХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Сухое молоко вырабатывают двумя способами: путем сушки сгущенного молока распылением или путем пленочной сушки на вальцах. Методом распылительной сушки получают также сухие сливки, сухую сыворотку, пахту и другие сухие продукты.

При производстве сухого молока не достигается полного уничтожения микроорганизмов. Сохраняемость продукта обеспечивается низким содержанием влаги (не более 5%).

Особенность процессов — при длительном хранении сырья, в охлажденном состоянии, развивается психрофильная микрофлора, которая погибает при пастеризации, но ферменты остаются и при хранении готового продукта могут вызывать изменения компонентов.

При распылительной сушке температура капель достигает 60–90°C, при этом не все микроорганизмы погибают. При пленочной сушке температура тонкой пленки около 150°C. При последующих операциях (**охлаждение, транспортирование, упаковка**) может происходить обсеменение различными микроорганизмами, в том числе БГКП, плесенями и дрожжами. В дальнейшем при хранении продукта большинство микроорганизмов погибает, однако при увлажнении происходит быстрая порча продукта.

В процессе сушки уменьшается количество вегетативных форм и увеличивается доля спорных аэробных и анаэробных микроорганизмов. При последующих операциях может происходить вторичное обсеменение продукта с оборудования.

Следует отметить, что при использовании сильно обсемененного исходного сырья в нем содержится большее количество бактериофагов, многие из которых способны выживать в процессе сушки.

Микробиологические аспекты технологии сухих молочных продуктов на примере сухого молока приведены в таблице 11.4.

При производстве сухих продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки усиленной критической контрольной точкой, в сравнении с производством сгущенных продуктов, является процесс сушки.

**Готовый продукт.** В условиях производственной лаборатории контролю подлежит каждая партия готового продукта. Микробиологические показатели, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля сухих продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки, подлежащие контролю в готовом продукте в условиях производственной лаборатории, представлены в таблице 11.5.

## Микробиологические аспекты технологии сухого молока

Процесс	Микробиологический аспект
Приемка сырья. Сырое молоко	Споры бактерий <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i> , термоустойчивые бактерии (энтерококки, коагулазоположительные стафилококки), бактериофаги
Очистка (центрифугирование)	Удаление части спор и вегетативных клеток с загрязнителями, дробление скоплений микроорганизмов
Охлаждение, нормализация по жиру для цельного сухого молока	Возможно обсеменение при неудовлетворительной мойке и дезинфекции оборудования БГКП, микрококками
Предварительное нагревание до $t = 80-90^{\circ}\text{C}$ в течение 3–5 мин или до $t = 105-120^{\circ}\text{C}$ несколько секунд	Селективный отбор микроорганизмов: при температуре $80-90^{\circ}\text{C}$ преимущественно споры и вегетативные клетки термофильных микроорганизмов (энтерококки, микрококки, стафилококки); при температуре $105-120^{\circ}\text{C}$ — споры бактерий
Гомогенизация, охлаждение	Дополнительное обсеменение при неудовлетворительной мойке и дезинфекции оборудования
Сгущение под вакуумом при снижении температуры от $70$ до $40^{\circ}\text{C}$	Возможно размножение термофильных спорообразующих и неспорообразующих микроорганизмов
Сушка распылением (температура сухого воздуха $150-200^{\circ}\text{C}$ , температура капелек молока $90^{\circ}\text{C}$ )	Уменьшение количества вегетативных форм и увеличение доли спорных аэробных и анаэробных микроорганизмов
Охлаждение, упаковывание	Возможность дополнительного обсеменения из воздуха и с оборудования
Хранение, реализация	Отмирание большинства микроорганизмов, рост плесени при повышенной влажности

Таблица 11.5

## Микробиологические показатели сухих молочных продуктов

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
<b>Молоко коровье сухое цельное</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$5 \times 10^4$	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	Каждая партия
<b>Молоко сухое обезжиренное для непосредственного употребления</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$5 \times 10^4$	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	Каждая партия
<b>Напитки сухие молочные</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \times 10^5$	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	Каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50	Не реже 2 раз в месяц

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
<b>Сливки сухие и сливки сухие с сахаром</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$7 \times 10^4$	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	Каждая партия
<b>Продукты кисломолочные сухие</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \times 10^5$	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	Каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	Не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	50	Не реже 2 раз в месяц
<b>Обезжиренное молоко, заменитель цельного молока, сухие</b>		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$5 \times 10^4$	Каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	Каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	Не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	50	Не реже 2 раз в месяц

**Хранение.** Сухие продукты из молока, сливок, пахты должны храниться при температуре от 0 до 10°C и относительной влажности воздуха не более 85%. Сухие продукты из сыворотки должны храниться при температуре 18±2°C и относительной влажности воздуха не более 80%. Допускается изменение условий хранения сухих продуктов при совершенствовании технологического процесса.

**Особенности контроля производства сухих смесей для продуктов детского питания** связаны с несформированностью защитных систем ребенка и использованием большого количества компонентов молочного и немолочного происхождения. Особенно жесткие требования предъявляются к смесям, приготовляемым без кипячения. Помимо обычных показателей, нормируемых более жестко (КМАФАнМ для смесей без кипячения не более 2000–3000, БГКП должны отсутствовать в 1 г), введены также показатели отсутствия патогенных, в том числе сальмонелл и патогенного стафилококка, *Bac. cereus*, *Enterobacter sakazakii*, также нормируется количество дрожжей и плесеней.

Пороки сухих молочных продуктов и возбудители этих пороков представлены в таблице 11.6.

Таблица 11.6

#### Пороки микробного происхождения сухих молочных продуктов

Порок	Причина	Условия
Пороки вкуса, пищевые отравления	<i>B. subtilis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. stearothermophilus</i>	Длительное пребывание в вакуум-выпарной установке, размножаются при восстановлении сухого молока
Высокая обсемененность, кислый, горький вкус	<i>Str. thermophilus</i> , <i>Ent. durans</i> , <i>Ent. faecalis</i> (энтерококки), стафилококки	Загрязненное оборудование, трубопроводы, развитие в вакуум-выпарной установке при низких температурах сгущения

Порок	Причина	Условия
Горький, прогорклый вкус	Психрофильные микроорганизмы (ферменты)	Длительное хранение сырья при низких температурах
Плесневение	<i>Penicillium, Aspergillus, Mucor</i>	Обсеменение с оборудования, из воздуха; увлажнение в процессе хранения
БГКП сверх нормы (должны отсутствовать в 0,1 г)	БГКП	Неудовлетворительное состояние производства

## 11.5. МИКРОБИОЛОГИЯ МОРОЖЕНОГО

Особенностью технологии мороженого является использование различного сырья и большого количества добавок, причем каждый вид может являться источником специфической микрофлоры. Все компоненты мороженого должны проходить микробиологический анализ на соответствие требованиям стандартов.

К наиболее опасным видам сырья животного происхождения относятся куриные яйца и яйцопродукты, которые могут быть потенциальными источниками сальмонелл и гемолитических стрептококков, а также желатин, в котором могут находиться споровые микроорганизмы (*Bacillus, Clostridium*) и бактерии группы кишечных палочек. Многие растительные компоненты (например, фрукты, джемы, орехи) иногда бывают заражены дрожжами и плесневыми грибами, способными образовывать микотоксины. Сахароза может быть загрязнена осмофильными дрожжами. В шоколаде и какао часто выявляют споры *Bacillus*, реже осмофильные дрожжи и плесневые грибы.

Из оставшихся после пастеризации молока жизнеспособных микробов на качество мороженого могут оказывать влияние бациллы, термоустойчивые микрококки и энтерококки, а после вторичного обсеменения — продуцирующие веротоксин *E. coli*.

Последовательность выживания микроорганизмов в мороженом (от наиболее высокой до самой низкой) можно представить так: споры бактерий → споры плесеней и дрожжей → грамположительные бактерии → вегетативные клетки плесеней и дрожжей → грамотрицательные бактерии.

Морозильное хранение продукции предотвращает рост и размножение всех микроорганизмов, поддерживая их численность на низком уровне, за исключением *L. monocytogenes*. Количество жизнеспособных *L. monocytogenes* в мороженом после его обсеменения этой микрофлорой остается постоянной в ходе фризирования и последующего хранения при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$  в течение трех месяцев, что обусловлено криозащитным действием веществ, растворенных в незамороженной фазе мороженого.

Контроль технологического процесса производства мороженого предусматривает контроль сырья, смеси для мороженого до и после пастеризации, смеси после созревания, готовый продукт. В пробах из всех названных объектов определяют общее количество бактерий и содержание бактерий группы кишечных палочек. Допустимые уровни содержания микроорганизмов в мороженом и смесях для мороженого представлены в таблице 11.7.

Таблица 11.7

Допустимые уровни содержания микроорганизмов в мороженом и смесях для мороженого (требования ТР ТС 033/2013)

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/см <sup>3</sup> (г), не более	Масса продукта (г, см <sup>3</sup> ), в которой не допускаются			
		БГКП (коли-формы)	сальмонеллы	стафилококки <i>S. aureus</i>	листерии <i>L. monocytogenes</i>
Мороженое молочное, сливочное, пломбир, с заменителем молочного жира, закаленное, в том числе с компонентами	$1 \cdot 10^5$	0,01	25	1,0	25
Мороженое молочное, сливочное, пломбир, с заменителем молочного жира, мягкое, в том числе с компонентами	$1 \cdot 10^5$	0,1	25	1,0	25
Жидкие смеси для мягкого мороженого	$3 \cdot 10^4$	0,01	25	1,0	25
Мороженое кисломолочное	Молочнокислых микроорганизмов не менее $1 \cdot 10^6$	0,1	25	1,0	25
Сухие смеси для мороженого	$5 \cdot 10^4$	0,1	25	1	25 (для мягкого мороженого)

В последние десятилетия наблюдается рост интереса к производству и потреблению кисломолочного мороженого, подтверждением чего является разработка и утверждение ГОСТ Р 32929-2014 «Мороженое кисломолочное». В известных способах получения ферментированного мороженого в основном используются молочнокислые микроорганизмы (чаще всего йогуртовые культуры *Lactobacillus bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus*, а также *Lactobacillus acidophilus*, реже *Lactobacillus salivatorius*, *Lactobacillus casei*, *Lb. rhamnosus*,

*Lactobacillus reuteri*) и/или бифидобактерии (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*). В литературе встречаются упоминания о применении других микроорганизмов — *Propionibacterium shermanii*, *Enterococcus faecium* и симбиотической кефирной закваски. В производстве кисломолочного мороженого используются разнообразные функциональные добавки, в том числе пребиотики, однако взаимодействие этих компонентов с заквасочной микрофлорой пока изучено недостаточно.

В работе М. А. Федотовой (научный руководитель В. И. Ганина) обоснованы параметры технологического процесса, обеспечивающие производство мороженого с пробиотическими культурами стабильного качества, в том числе при использовании нового консорциума пробиотических культур *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* и *Str. thermophilus*; установлены закономерности влияния массовой доли сахарозы и пребиотических компонентов на развитие пробиотических культур в смесях для мороженого; выявлены закономерности развития и выживаемости пробиотических бактерий, а также изменения показателей качества и безопасности в процессе производства и хранения мороженого с пробиотическими культурами.

В работе В. Р. Ахмедовой (научный руководитель С. А. Рябцева) представлены результаты исследования процессов сквашивания смесей для мороженого заквасками, содержащими *Lactococcus lactis spp.* и *Str. thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactococcus lactis spp.* и *Lactobacillus casei*, *Str. thermophilus*, *Str. thermophilus* и *Lactobacillus bulgaricus*, а также кефирной закваской; показано, что применение отечественной закваски *Lactobacillus acidophilus* позволяет быстро, в течение 4–6 ч, провести процесс ферментации смеси до титруемой кислотности 70–90°Т, при этом количество живых клеток заквасочной микрофлоры достигает уровня  $10^8$  КОЕ/г, необходимого для обеспечения нормируемых микробиологических показателей кисломолочного мороженого, а также придавать сквашенным смесям для мороженого повышенную антиоксидантную активность.

## ВЫВОДЫ

1. Способы длительного сохранения качества молочных консервов основаны на биологических принципах абиоза и анабиоза.

2. Молоко сгущенное стерилизованное в банках должно удовлетворять требованиям промышленной стерильности. Основными причинами возникновения пороков сгущенного стерилизованного молока являются нарушение режимов стерилизации, наличие в банках кислорода, повышенная температура хранения.

3. Усиленной критической контрольной точкой при производстве сгущенных молочных консервов является процесс сгущения. При увеличении длительности сгущения и ведении процесса на нижних температурных пределах возможно развитие термофильных микроорганизмов.

4. Усиленной критической контрольной точкой при производстве сухих молочных продуктов является процесс сушки, в процессе которого происходит

уменьшение количества вегетативных форм и увеличение доли споровых аэробных и анаэробных микроорганизмов.

5. Особенностью технологии мороженого является использование различного сырья и большого количества добавок, причем каждый вид может являться источником специфической микрофлоры.

## ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

### БАЗОВЫЙ УРОВЕНЬ

1. Назовите биологические принципы, лежащие в основе консервирования.
2. Методы подавления жизнедеятельности микроорганизмов.
3. Способы уничтожения микроорганизмов в молочной промышленности.
4. На каком биологическом принципе основано производство стерилизованных молочных консервов?
5. Как осуществляют контроль готовой продукции при производстве стерилизованных сгущенных консервов?
6. На каком биологическом принципе основано консервирование сгущенного молока с сахаром?
7. На каком биологическом принципе основано консервирование сухого молока?
8. Особенность микробиологических процессов при производстве сухих молочных продуктов.
9. Источники обсеменения мороженого микроорганизмами.

### ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ

1. В чем принципиальная разница между абизозом и анабизозом?
2. Охарактеризуйте способы подавления и уничтожения микроорганизмов, применяемые при производстве сгущенных и сухих молочных продуктов.
3. Микробиологические аспекты производства стерилизованных сгущенных консервов.
4. Микробиологические аспекты технологии сгущенных молочных консервов на примере сгущенного молока с сахаром.
5. Как влияют различные группы микроорганизмов на качество сгущенного молока с сахаром?
6. Микробиологические аспекты технологии сухих молочных продуктов.
7. Особенности контроля производства сухих смесей для продуктов детского питания.
8. Особенность микробиологических процессов при производстве кисломолочного мороженого.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА И ИНТЕРНЕТ-ИСТОЧНИКИ

1. Банникова, Л. А. Микробиологические основы молочного производства : справочник / Л. А. Банникова, Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. — М. : Агропромиздат, 1987. — 400 с.
2. Билетова, Н. В. Санитарная микробиология / Н. В. Билетова, Р. П. Корнелеева, Л. Г. Кострикина [и др.]. — М. : Пищевая промышленность, 1980. — 352 с.
3. Ганина, В. И. Производственный контроль молочной продукции : учебник / В. И. Ганина, Л. А. Борисова, В. В. Морозова. — М. : ИНФРА-М, 2016. — 248 с.
4. Гофф, Г. Д. Мороженое / Г. Д. Гофф, Р. У. Гартел ; пер. с англ. 7-го изд. — 2-е изд., перераб. и доп. — СПб. : Профессия, 2016. — 540 с.
5. Королева, Н. С. Санитарная микробиология молока и молочных продуктов / Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. — М. : Пищевая промышленность, 1980. — 256 с.
6. Мюнх, Г.-Д. Микробиология продуктов животного происхождения / Г.-Д. Мюнх, Х. Заупе, М. Шрайтер [и др.] ; пер. с нем. Е. Г. Токаря. — М. : Агропромиздат, 1985. — С. 45–75.
7. Степаненко, П. П. Микробиология молока и молочных продуктов : учебник. — Сергиев Посад : Все для Вас — Подмосковье, 2002. — 415 с. // [http://mppnik.ru/load/molochnaja\\_promyshlennost/stepanenko\\_p\\_p\\_mikrobiologija\\_moloka\\_i\\_molochnykh\\_produktov/5-1-0-110](http://mppnik.ru/load/molochnaja_promyshlennost/stepanenko_p_p_mikrobiologija_moloka_i_molochnykh_produktov/5-1-0-110).
8. Федотова, М. А. Разработка технологии мороженого с пробиотическими культурами : дисс. ... кандидата технических наук. — М., 2008. — 148 с. <http://www.dslib.net/>.
9. Ахмедова, В. Р. Разработка технологии кисломолочного мороженого с пробиотическими компонентами : дисс. ... канд. техн. наук. — Ставрополь, 2015. — 166 с. <http://www.dslib.net/>.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисциплина «Микробиология молока и молочных продуктов» является научной основой обеспечения качества и безопасности готовой продукции.

Молоко представляет собой благоприятную среду для развития многих видов микроорганизмов, так как содержит много воды, доступный источник углерода и энергии — лактозу, белки, небелковые азотистые вещества, жир, минеральные соли. Поэтому в молоке может развиваться не только микрофлора заквасок, но и микроорганизмы, вызывающие порчу продуктов, и даже болезнетворные микроорганизмы. Задача технолога — знать принципы управления развитием полезной и методы подавления нежелательной микрофлоры.

В последние годы в молочной промышленности происходят существенные изменения, касающиеся вопросов обеспечения качества и безопасности продукции. Следствие этого — ужесточение и усложнение требований к микробиологическим показателям, появление новых методов контроля, систем обеспечения качества и безопасности, необходимость гармонизации и унификации стандартов.

Основные направления современных исследований связаны с обеспечением качества и безопасности молочных продуктов, разработкой новых видов и штаммов заквасочной микрофлоры с производственно-ценными и функциональными свойствами, совершенствованием методов и средств микробиологического контроля.

К ведущим тенденциям относится использование в производстве молочных продуктов функциональных компонентов, прежде всего пробиотиков — микроорганизмов, оказывающих благоприятные эффекты на здоровье человека через оптимизацию его микрoэкологического статуса. Основными механизмами положительного эффекта пробиотиков считают стимуляцию иммунитета, нейтрализацию токсинов, регуляцию процессов всасывания питательных субстратов, выработку веществ, необходимых макроорганизму, подавление условно-патогенной и патогенной микрофлоры.

Методы предупреждения пороков молочных продуктов основаны на использовании качественного сырья, температурном воздействии, снижении активности воды и кислотности продуктов, соблюдении правил мойки и дезинфекции, гигиены и санитарии, микробиологическом контроле.

Проблема обеспечения микробиологической безопасности молочных продуктов приобретает особую актуальность в связи с увеличением числа заболеваний, передающихся алиментарным путем. Под влиянием разнообразных факторов внешней среды, в том числе технологических, у бактерий могут возникать адаптивные мутации, связанные с появлением или усилением болезнетворности. Поэтому необходимо совершенствование методической базы микробиологического контроля с использованием современных достижений в области молекулярно-генетической диагностики.

# ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение .....	3
<b>1. История развития и современное состояние микробиологии молочных продуктов .....</b>	<b>4</b>
1.1. История развития технической микробиологии молочного дела .....	4
1.2. Современное состояние технической микробиологии молочного дела .....	6
1.3. Классификация микроорганизмов в зависимости от их роли в формировании качества и безопасности молочной продукции .....	8
Выводы .....	10
Вопросы и задания для самоконтроля .....	11
Рекомендуемая литература и интернет-источники .....	11
<b>2. Характеристика микроорганизмов, применяемых в производстве молочных продуктов .....</b>	<b>13</b>
2.1. Систематика и общие свойства молочнокислых микроорганизмов .....	13
2.2. Молочнокислые кокки: лактококки, стрептококки, лейконостоки .....	16
2.3. Молочнокислые палочки: термобактерии, бетабактерии, стрептобактерии .....	18
2.4. Определение, классификация и механизмы действия пробиотиков .....	21
2.5. Бифидобактерии как пробиотическая микрофлора .....	23
2.6. Симбиоз кефирного грибка .....	27
2.7. Дрожжи, применяемые в молочной промышленности .....	29
2.8. Специфическая микрофлора, используемая в сыроделии .....	33
Выводы .....	34
Вопросы и задания для самоконтроля .....	35
Рекомендуемая литература и интернет-источники .....	36
<b>3. Характеристика микроорганизмов, вызывающих пороки молока и молочных продуктов .....</b>	<b>38</b>
3.1. Классификация возбудителей порчи молочных продуктов и основные методы предупреждения их развития .....	38
3.2. Спорообразующие микроорганизмы: бациллы и клостридии .....	40
3.3. Бесспорные микроорганизмы: псевдомонады и энтеробактерии .....	42
3.4. Термоустойчивые неспорообразующие микроорганизмы .....	43
3.5. Плесени и дрожжи .....	45
3.6. Бактериофаги .....	50
Выводы .....	56
Задания для разбора конкретных ситуаций .....	57
Вопросы и задания для самоконтроля .....	58
Рекомендуемая литература и интернет-источники .....	59

<b>4. Характеристика патогенных микроорганизмов, вызывающих алиментарные заболевания .....</b>	<b>60</b>
4.1. Классификация патогенных микроорганизмов, встречающихся в молоке и молочных продуктах.	
Меры обеспечения их безопасности .....	60
4.2. Возбудители пищевых отравлений — токсикозов .....	62
4.3. Возбудители пищевых токсикоинфекций .....	64
4.4. Возбудители инфекционных болезней человека .....	66
4.5. Возбудители зооантропонозов .....	68
Выводы .....	69
Вопросы и задания для самоконтроля .....	70
Рекомендуемая литература и интернет-источники .....	70
<b>5. Характеристика санитарно-показательных микроорганизмов .....</b>	<b>72</b>
5.1. Методы прямого обнаружения пищевых патогенов .....	72
5.2. Индикаторы патогенов (санитарно-показательные микроорганизмы) .....	73
5.3. Бактерии группы кишечных палочек (БГКП) как основные санитарно-показательные микроорганизмы .....	74
5.4. Общая бактериальная обсемененность (КМАФАнМ) и другие СПМ .....	76
Выводы .....	78
Вопросы и задания для самоконтроля .....	78
Рекомендуемая литература и интернет-источники .....	79
<b>6. Микробиология сырого и питьевого молока .....</b>	<b>81</b>
6.1. Источники первичного обсеменения молока и меры его предупреждения .....	81
6.2. Изменение микрофлоры сырого молока при хранении (смена фаз) .....	83
6.3. Пороки сырого молока и меры их предупреждения .....	84
6.4. Требования к молоку-сырью при приемке .....	84
6.5. Способы снижения бактериальной обсемененности при производстве питьевого молока и сливок .....	89
6.6. Микробиологический контроль пастеризованного питьевого молока и питьевых сливок .....	92
6.7. Микробиологические аспекты получения стерилизованного молока (сливок) .....	93
6.8. Пороки питьевого молока и сливок .....	94
Выводы .....	95
Задания для разбора конкретных ситуаций .....	96
Вопросы и задания для самоконтроля .....	96
Рекомендуемая литература и интернет-источники .....	97
<b>7. Микробиология заквасок .....</b>	<b>99</b>
7.1. Классификация заквасок .....	99
7.2. Требования к традиционным и пробиотическим закваскам .....	102

7.3. Основные этапы создания и производства заквасок .....	104
7.4. Выделение чистых культур молочнокислых бактерий .....	108
7.5. Этапы приготовления заквасок на предприятии .....	109
7.6. Пороки заквасок и меры их предупреждения .....	113
Выводы .....	115
Вопросы и задания для самоконтроля .....	116
Рекомендуемая литература и интернет-источники .....	117
<b>8. Микробиология кисломолочных продуктов .....</b>	<b>118</b>
8.1. Факторы, определяющие направление развития микрофлоры при производстве кисломолочных продуктов .....	118
8.2. Классификация кисломолочных продуктов .....	118
8.3. Микробиологические аспекты производства кисломолочных продуктов .....	122
8.4. Пороки кисломолочных продуктов и меры их предупреждения ..	124
8.5. Контроль производства кисломолочных продуктов .....	125
Выводы .....	127
Вопросы и задания для самоконтроля .....	127
Рекомендуемая литература и интернет-источники .....	128
<b>9. Микробиология сыра .....</b>	<b>130</b>
9.1. Особенности микробиологических процессов при производстве сыра и источники его микрофлоры .....	130
9.2. Пути снижения бактериальной обсемененности молока в сыроделии .....	133
9.3. Микробиологические процессы при выработке сыра .....	134
9.4. Характеристика заквасок для разных групп сыров .....	137
9.5. Микробиологические и биохимические превращения компонентов сыра в процессе созревания .....	140
9.6. Особенности микробиологических процессов при созревании разных групп сыров .....	142
9.7. Пороки сыров и меры их предупреждения .....	143
9.8. Микробиологический контроль в сыроделии .....	149
Выводы .....	152
Задания для разбора конкретных ситуаций .....	153
Вопросы и задания для самоконтроля .....	153
Рекомендуемая литература и интернет-источники .....	154
<b>10. Микробиология масла и вторичного молочного сырья .....</b>	<b>156</b>
10.1. Особенности микробиологических процессов при производстве масла .....	156
10.2. Факторы, влияющие на микробиологические показатели масла и его стойкость при хранении .....	156
10.3. Изменение микрофлоры масла в процессе хранения .....	158
10.4. Пороки масла и меры их предупреждения .....	159
10.5. Микробиологический контроль производства масла .....	160

10.6. Микрофлора вторичного молочного сырья и продуктов из него.....	162
10.7. Микробиологический контроль продуктов из вторичного молочного сырья .....	166
Выводы .....	167
Вопросы и задания для самоконтроля .....	168
Рекомендуемая литература и интернет-источники .....	169
<b>11. Микробиология молочных консервов и мороженого .....</b>	<b>170</b>
11.1. Принципы консервирования молочных продуктов.....	170
11.2. Микробиология стерилизованных молочных консервов .....	171
11.3. Микробиология сгущенных молочных консервов .....	173
11.4. Микробиология сухих молочных продуктов .....	176
11.5. Микробиология мороженого .....	179
Выводы .....	181
Вопросы и задания для самоконтроля .....	182
Рекомендуемая литература и интернет-источники .....	183
<b>Заключение .....</b>	<b>184</b>

*Светлана Андреевна РЯБЦЕВА,  
Вера Ивановна ГАНИНА,  
Нина Михайловна ПАНОВА*

**МИКРОБИОЛОГИЯ МОЛОКА И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ**  
*Учебное пособие*

Зав. редакцией  
естественнонаучной литературы *М. В. Рудкевич*  
Ответственный редактор *С. В. Макаров*  
Подготовка макета *Е. Е. Егорова*  
Корректор *В. Ж. Лапина*  
Выпускающий *С. Ю. Гаганов*

ЛР № 065466 от 21.10.97  
Гигиенический сертификат 78.01.10.953.П.1028  
от 14.04.2016 г., выдан ЦГСЭН в СПб  
Издательство «ЛАНЬ»  
lan@lanbook.ru; www.lanbook.com  
196105, Санкт-Петербург, пр. Юрия Гагарина, 1, лит. А.  
Тел.: (812) 412-05-97, 336-25-09.  
Бесплатный звонок по России: 8-800-700-40-71

Подписано в печать 22.01.18.  
Бумага офсетная. Гарнитура Школьная. Формат 70×100<sup>1/16</sup>.  
Печать офсетная. Усл. п. л. 15,60. Тираж 50 экз.  
Заказ № 709-18.  
Отпечатано в полном соответствии  
с качеством предоставленного оригинал-макета  
в АО «Т8 Издательские технологии»  
109316, г. Москва, Волгоградский пр., д. 42, к. 5.

# ГДЕ КУПИТЬ

## ДЛЯ ОРГАНИЗАЦИЙ:

Для того, чтобы заказать необходимые Вам книги,  
достаточно обратиться в любую из торговых компаний  
Издательского Дома «ЛАНЬ»:

по России и зарубежью

«ЛАНЬ-ТРЕЙД»

РФ, 196105, Санкт-Петербург, пр. Ю. Гагарина, 1

тел.: (812) 412-85-78, 412-14-45, 412-85-82

тел./факс: (812) 412-54-93

e-mail: trade@lanbook.ru

ICQ: 446-869-967

[www.lanbook.com](http://www.lanbook.com)

пункт меню «Где купить»

раздел «Прайс-листы, каталоги»

в Москве и в Московской области

«ЛАНЬ-ПРЕСС»

109387, Москва, ул. Летняя, д. 6

тел.: (499) 178-65-85, 722-72-30

e-mail: lanpress@lanbook.ru

в Краснодаре и в Краснодарском крае

«ЛАНЬ-ЮГ»

350901, Краснодар, ул. Жлобы, д. 1/1

тел.: (861) 274-10-35

e-mail: lankrd98@mail.ru

## ДЛЯ РОЗНИЧНЫХ ПОКУПАТЕЛЕЙ:

интернет-магазин

Издательство «Лань»: <http://www.lanbook.com>

магазин электронных книг

Global F5

<http://globalf5.com/>

**Издательство**  
**«ЛАНЬ»**  ЛАНЬ®

**ЕСТЕСТВЕННОНАУЧНАЯ  
ЛИТЕРАТУРА  
ДЛЯ ВЫСШЕЙ ШКОЛЫ**

Мы издаем новые  
и ставшие классическими учебники  
и учебные пособия по общим  
и общепрофессиональным  
направлениям подготовки.

Большая часть литературы  
издательства «ЛАНЬ»  
рекомендована Министерством образования  
и науки РФ и используется вузами  
в качестве обязательной.

Мы активно сотрудничаем  
с представителями высшей школы,  
научно-методическими советами  
Министерства образования и науки РФ,  
УМО по различным направлениям  
и специальностям по вопросам грифования,  
рецензирования учебной литературы  
и формирования перспективных планов издательства.

**Наши адреса и телефоны:**

РФ, 196105, Санкт-Петербург, пр. Юрия Гагарина, 1  
(812) 336-25-09, 412-92-72  
[www.lanbook.com](http://www.lanbook.com)