

*М.О. Шугай, канд. біол. наук, с. н. с.,  
Н.Ф. Кігель, д-р техн. наук,  
завідувач відділу біотехнології,  
Інститут продовольчих ресурсів  
НААН України*

## **БЕЗПЕЧНІСТЬ ТА ЯКІСТЬ СИРУ: ЯК ПОЛІПШИТИ МІКРОБІОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ МОЛОКА-СИРОВИНИ**

*Якість молочної сировини, зокрема її мікробіологічні показники, є одним із визначальних факторів безпеки та якості отриманого сиру. У статті проаналізовано джерела забруднення молока важливою щодо сировиробництва промислово шкідливою та патогенною мікрофлорою. Показано вплив основних груп забруднювачів мікробного і вірусного походження на показники безпеки та якості сиру. Дано оцінку ефективності використання традиційних і сучасних способів поліпшення мікробіологічних характеристик молочної сировини стосовно впливу на сторонню і заквашувальну мікрофлору, а також на фізико-хімічні й органолептичні показники отриманого продукту.*

*Ключові слова: безпека і якість сиру, молоко-сировина, мікрофлора молока, обробка молока.*

*Качество молочного сырья, в частности его микробиологические показатели, является одним из определяющих факторов безопасности и качества получаемого сыра. В статье проанализированы источники загрязнения молока важной с точки зрения сыроделия промышленно вредной и патогенной микрофлорой. Показано влияние основных групп загрязнителей микробного и вирусного происхождения на показатели безопасности и качества сыра. Дана оценка эффективности использования традиционных и современных способов улучшения микробиологических характеристик молочного сырья относительно их влияния на посторон-*

ною и заквасочную микрофлору, а также на физико-химические и органолептические показатели получаемого продукта.

*Ключевые слова:* безопасность и качество сыра, молоко-сырье, микрофлора молока, обработка молока.

*A method for identifying cultures of Penicillium candidum and Geotrichum candidum by polymerase chain reaction have been designed, the influence of these cultures on the content of aromatic compounds in soft cheeses have been investigated, a number of characteristic volatile compounds was identified and defined by capillary gas chromatography.*

*Key words:* culture of Penicillium candidum, Geotrichum candidum, volatile aromatic compounds, soft cheese.

Виробництво сиру – складний і довготривалий процес під час якого завдяки мікробіологічним, біохімічним та фізико-хімічним перетворенням, що відбуваються у сирній масі, формуються притаманні сиру даного виду консистенція, малюнок, специфічні смак і аромат. Формування якісних показників сиру залежить від ряду факторів, серед яких одним з визначальних є якість молочної сировини, зокрема її мікробіологічні характеристики. Причому важливе значення має як видовий спектр наявної в молоці мікрофлори, так і кількісні показники.

Відомо, що отримати стерильне молоко, навіть за хороших санітарних умов, неможливо, оскільки вже в момент видоювання воно зазнає бактеріального забруднення сапрофітними бактеріями, які постійно знаходяться в сосковому каналі. Після доїння молоко неодмінно забруднюється мікрофлорою з навколишнього середовища: бактеріями групи кишкової палички, ентерококами, молочнокислими і маслянокислими бактеріями, спороутворювальними бацилами, псевдомонадами, коринебактеріями, дріжджами та пліснявими грибами. Джерелом контамінації може бути молочне обладнання, на поверхні якого мікроорганізми утворюють стійкі до дії зовнішніх факторів біоплівки, часточки бруду, що потрапили в молоко з вимені, корм, підстилка, ґрунт, вода, повітря тощо. Більшість мікроорганізмів мають специфічне походження. Наприклад, наявність у молоці

*Staphylococcus aureus* зазвичай зумовлена потраплянням маститного молока, а силос є джерелом спор маслянокислих бактерій (табл. 1). Загалом рівень забруднення молока визначається умовами утримання тварин, навколишнім середовищем, у якому вони перебувають, станом інвентаря, що контактує з молоком, та залежить від дотримання гігієнічних вимог працівниками, які отримують молоко та проводять його первинну обробку.

Таблиця 1

**Джерела забруднення молока технічно шкідливою і патогенною мікрофлорою**

Мікроорганізми	Джерело забруднення	Здатність до репродукції у молоці	Спричинені проблеми
<i>Bacillus cereus</i>	Навколишнє середовище (корм, гній, ґрунт) доїльне обладнання	+	Нечистий гнилісний присмак та запах сиру; у разі високого титру – безпечність сирів
Маслянокислі бактерії, особливо <i>Clostridium tyrobutyricum</i>	Навколишнє середовище (корм, гній)	-	Вада „пізне здуття” твердих і напівтвердих сичужних сирів
<i>Escherichia coli</i>	Навколишнє середовище (гній та підстилка)	+	Безпечність сирів, затхлий сторонній присмак
<i>Pseudomonas spp.</i>	Навколишнє середовище (підстилка, ґрунт, молочне обладнання)	+	Вади смаку – прогірклість
<i>Staphylococcus aureus</i>	Секрет вимені маститних корів	+	Безпечність сирів
<i>Listeria monocytogenes</i>	Навколишнє середовище (корм, гній)	+	Безпечність сирів
<i>Salmonella spp.</i>	Навколишнє середовище (гній)	+	Безпечність сирів

Під час резервування і транспортування молока відбувається розмноження мікроорганізмів, внаслідок чого зростає їх кількість і може змінюватись якісний склад та співвідношення між окремими групами і видами. Характер цих змін залежить від температури і тривалості зберігання молока, початкового ступеня його забруднення та складу мікрофлори. Для збільшення терміну придатності молока до переробки у молочній промисловості запроваджено холодильне його зберігання.

Умовно критичною точкою охолодження молока є температура 10 °С, після досягнення якої всі процеси, пов'язані з ростом і розвитком бактерій, істотно уповільнюються. Однак за цих умов може відбуватися ріст деяких мікроорганізмів, у тому числі *B. cereus*, бактерій родів *Alkaligenes*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* та ін., а деякі психротрофи, як, наприклад, *Pseudomonas* spp. та *L. monocytogenes*, здатні репродукуватись навіть за температури, нижчої за 6 °С [1]. Внаслідок цього психротрофи стають однією з головних екологічних груп сирого молока.

Ступінь бактеріального забруднення молочної сировини прийнято оцінювати за чисельністю мезофільних аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів (МАФAM). Цей показник свідчить про рівень її забруднення сапрофітною мезофільною мікрофлорою різних таксономічних груп і є одним з найважливіших критеріїв визначення гатунку молока. В Україні згідно з ДСТУ 3662-97 за рівня загального бактеріального забруднення в 1 см<sup>3</sup> не більше ніж 3×10<sup>5</sup> мікроорганізмів, молоко оцінюють вищим гатунком, 5×10<sup>5</sup> – першим та 3×10<sup>6</sup> – другим. З 2007 року до стандарту введено гатунок „екстра”, показники якого відповідають вимогам ЄС: чисельність МАФAM не повинна перевищувати 10<sup>5</sup> КУО/см<sup>3</sup>. Проте внаслідок того, що більша частина молока виробляється у приватних господарствах населення, де рівень санітарно-гігієнічних умов не завжди відповідає сучасним вимогам, спостерігається великий дефіцит якісної сировини.

За нашими даними, отриманими на підставі дослідження збірного заготівельного молока Київської області, з 14 проб лише 2 було оцінено першим гатунком, 6 – другим, решта – як несор-

тове молоко. Домінуючу частину мікрофлори сировини становили лактобактерії ( $3 \times 10^5 \div 4 \times 10^7$  КУО/см<sup>3</sup>). Досить чисельною виявилась група психротрофних мікроорганізмів ( $5 \times 10^4 \div 7 \times 10^6$  КУО/см<sup>3</sup>), переважну більшість яких склали бактерії роду *Pseudomonas*. Виявлено також представників роду *Acinetobacter*, родини *Enterobacteriaceae* та холодостійкі плісені. Забруднення психротрофною мікрофлорою знижує сиропридатність молока, оскільки ці мікроорганізми здатні продукувати позаклітинні ферменти – ліпази і протеази. Спричинені ними ліполітичні та протеолітичні процеси призводять до утворення у молоці вільних жирних кислот і низькомолекулярних поліпептидів, що надають продукту неприємного прогірклого чи мильного присмаку, невластивого забарвлення. Під час пастеризації ферменти не інактивуються. Так, ліпази *Pseudomonas fluorescens* лише частково втрачають активність за температури 150 °С упродовж 22 с [2]. Внаслідок протео- та ліполітичних процесів, що відбуваються спочатку в молоці, а потім у сирній масі, може знижуватися вміст сухих речовин у продукті та зменшуватись його вихід [3].

Кількість психротрофних мікроорганізмів у сирому молоці вітчизняними нормативними документами не регламентується. Проте цей показник як критерій якості охолодженого молока залучено до стандартів деяких країн. Зокрема, згідно з вимогами чеських нормативних документів чисельність психротрофних бактерій у молочній сировині, призначеній для переробки, не повинна перевищувати  $5 \times 10^4$  КУО/см<sup>3</sup>.

Значну частину мікрофлори досліджених проб молока становили термофільні мікроорганізми ( $1 \times 10^5 \div 8 \times 10^6$  КУО/см<sup>3</sup>), здатні розвиватись за температури 45°С. Вони представлені переважно термостійкими молочнокислими паличками та бацилами.

Про недостатній рівень санітарно-гігієнічних умов під час отримання, транспортування чи зберігання молока свідчить значна (до  $10^6$  КУО/см<sup>3</sup>) у деяких пробах кількість бактерій групи кишкових паличок. Ці мікроорганізми гинуть за умов пастеризації, а їх наявність у високому титрі у сирі є наслідком порушень процесу виробництва.

Чотири проби містили умовно-патогенні бактерії роду *Staphylococcus* ( $10^2 \div 10^4$  КУО/см<sup>3</sup>), що є доказом наявності

домішки маститного молока. Хоча стафілококи, як і БГКП, інактивуються під час пастеризації, проте за неналежних умов виробництва можлива контамінація ними пастеризованого молока чи сирного згустку, внаслідок чого знижується рівень мікробіологічної безпечності продукту. Крім того, отруєння людей можуть спричиняти термостійкі токсини стафілококів.

Серед спорових бактерій виявлено аеробні ( $10 \div 10^3$  КУО/см<sup>3</sup>) та анаеробні форми ( $0 \div 10^2$  КУО/см<sup>3</sup>). Аеробна спороутворювальна мікрофлора молока-сировини представлена переважно бактеріями роду *Bacillus*: *B. licheniformis*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. mycoides* та *B. megaterium*. Бацили та їх спори досить поширені в навколишньому середовищі – ґрунті, воді, силосі, звідки вони потрапляють у молоко. Спори бацил виживають за умов пастеризації та високотемпературної обробки. Розвинувшись у вегетативну форму, вони здатні продукувати протеази, що спричиняють коагуляцію казеїну при відносно високих значеннях рН, внаслідок чого відбувається псування молока під час тривалого його зберігання [4]. Контамінований бацилами сир має нечистий, гнилісний присмак та запах. Крім того, споживання продуктів дуже забруднених *Bacillus cereus* може призвести до розвитку отруень (гастроентеритів) [5]. Інтоксикацію викликає ентеротоксин, продукований вегетативними формами, що проростають зі спор.

Особливо небезпечні для сироваріння анаеробні спороутворювальні бактерії роду *Clostridium*, насамперед *C. tyrobutyricum*. Вегетативна форма цих мікроорганізмів не виживає за умов пастеризації, тоді як спори витримують нагрівання до 120°C. Під час дозрівання сиру спори клостридій проростають і починають розмножуватися, призводячи до „пізнього здуття”. Виникнення вади пов’язане з ферментуванням лактатів у масляну кислоту, вуглекислий газ і водень. Газоутворення призводить до здуття сиру, а накопичення масляної кислоти вище концентрації 200 μг/л надає йому прогірклого присмаку. Наявність спор лактатзброджувальних клостридій є одним із факторів сиропридатності молока. Так, згідно з російським ГОСТ Р 52686–2006 кількість спор мезофільних анаеробних лактатзброджувальних бактерій у 1 дм<sup>3</sup> сировини для твердих сирів не повинна переви-

щувати 2500, а для напівтвердих – 13 000. Проте вітчизняні нормативні документи не висувають якихось особливих вимог до якості молока, призначеного для виробництва сиру.

За умов значного бактеріального забруднення сировини, що надходить на сироробні підприємства, виробникам необхідно отримати безпечний і якісний продукт. Поліпшення мікробіологічних показників молока досягається здійсненням пастеризації. У виробництві сиру прийнято використовувати режим термообробки за температури  $72 \pm 2$  °C з витримкою 15–20 с, яка дозволяє знизити рівень загального бактеріального забруднення молока, зберігши його сиропридатність. Під час пастеризації інактивуються насамперед психротрофна мікрофлора, коліформи, частково мікрококи. За цієї температури гинуть такі патогенні мікроорганізми, як лістерія, сальмонела, патогенні стрептококи, чим досягається гарантування необхідного рівня мікробіологічної безпечності отриманого продукту. Проте пастеризацію витримують ентерококи, термофільні лактобацили і лактококи, спори бактерій (табл. 2).

Таблиця 2

### Вплив обробки молока-сировини на мікрофлору

Мікроорганізми	Ефективність обробки молока, %		
	Пастеризація ( $72 \pm 2$ °C, 15–20 с)	Бактофугування у поєднанні з пасте- ризацією	Мікрофільтрація (діаметр пор 1,4 мкм)
Психротрофи	100	85,0÷98,0	98,6÷99,6
Мезофільні аеробні та факультативно анаеробні мікроорганізми	88,5÷96,7		
Термофільні аеробні та факультативно анаеробні мікроорганізми	78,4÷92,0		
Спори бактерій, дріжджів та плісень	~0	95,0÷98,0	99,9
Дріжджі та плісені (вегетативна форма)	98,5÷100	100	100
Бактеріофаги	~ 0	~0	~0

Стійкість до високих температур виявляють і лактофаги [6], які завжди є у сировині. Причому зі збільшенням бактеріального обмінення сирого молока, зростає титр фагів [7]. Репродукуючись у клітинах бактерій-хазяїв, ці віруси здатні швидко збільшувати чисельність. За наявності чутливих культур у складі закваски, що використовується для виробництва сиру, фаги можуть значно знизити її активність. Внаслідок цього уповільнюється наростання кислотності сирної маси, що створює сприятливі умови для розвитку сторонньої мікрофлори, зокрема бактерій групи кишкових паличок. Активний ріст цих мікроорганізмів, супроводжуваний інтенсивним виділенням вуглекислого газу та водню, є причиною порушення текстури сиру на ранніх етапах його дозрівання. Таким чином, ураження фаговою інфекцією високого титру може змінювати спрямованість ферментативних процесів і призводити до виникнення раннього здуття сиру.

Останнім часом набув поширення спосіб подвійної теплової обробки молока. Його суть полягає в тому, що спочатку сировину піддають термізації з подальшим охолодженням до температури не вище 10 °С упродовж 8–10 год. Перед переробкою проводять повторну термічну обробку молока за режиму  $72 \pm 2$  °С 15–20 с. Така обробка дає можливість поліпшити санітарно-гігієнічні показники молока та зберегти його сиропридатність. Внаслідок термізації зменшується кількість вегетативних форм мікроорганізмів та відбувається активація спор, які починають проростати під час витримки молочної суміші. Проведення повторної термообробки – пастеризації – дозволяє знищити утворені зі спор вегетативні клітини, чим досягається необхідний ступінь бактеріальної чистоти сировини. Певним недоліком подвійної термообробки як ефективного методу покращення сиропридатності молока і якості сиру є погіршення згортання молока. Однак це компенсується внесенням відповідної кількості солей кальцію і культур молочнокислих бактерій.

Для поліпшення мікробіологічних показників молока, призначеного для виробництва сиру, пропонувано різноманітні заходи, у тому числі використання хімічних сполук. Традиційним і



найдешевшим способом є внесення селітри. Додані до молока нітрати у кількості 20–30 г (за міжнародними нормами 15 г) на 100 кг молочної суміші відновлюються ферментом молока ксантиноксидазою до нітритів. Останні запобігають розвитку маслянокислого бродіння внаслідок блокування ферментних систем спор клостридій. Але застосування нітратів може призводити до утворення канцерогенних нітрозамінів. Тому в деяких країнах, наприклад Швейцарії, Італії, Франції, Греції, їх використання заборонено.

Пригнічення активності небажаної мікрофлори може відбуватись і завдяки внесенню лізоциму. Цей фермент, отримуваний з яєчного білка, гідролізує клітинні стінки грам-позитивних бактерій, здійснює бактеріостатичну та бактерицидну дію. За концентрації лізоциму 1000–2000 од. у 1 см<sup>3</sup> молока відбувається повне пригнічення росту клостридій чи проростання їх спор. Крім маслянокислих бактерій, певну чутливість до лізоциму виявляють небажані у сирах мікрококи, мікроорганізми роду *Bacillus* (зокрема, *Bacillus coagulans*, *Bacillus stearothermophilus* та *Bacillus cereus*), деякі дріжджі. Недоліком використання хімічних засобів є пригнічення розвитку чутливих культур заквашувальної мікрофлори, насамперед пропіоновокислих бактерій та цитратзбуджувальних лактобактерій, що негативно позначається на якості отриманого продукту.

Одним зі способів вилучення спорової мікрофлори є застосування перекисно-каталазної обробки молочної сировини. Порівняно з пастеризацією така обробка має певні переваги: краще зберігаються природні властивості молока, сир має кращий колір, рідше розвивається маслянокисле бродіння, досягається повне знищення коліформ, збільшується вихід продукту. Однак даний метод має і недоліки: необхідно додавати хімічний препарат високої чистоти, що позначається на собівартості сиру. Крім цього відбувається руйнування вітаміну С, а головне, до такої обробки виявляють стійкість стафілококи, збудники туберкульозу, бруцельозу та деякі інші хвороботворні мікроорганізми [8].

Альтернативою хімічній обробці молока можуть бути засоби біологічного впливу на небажану мікрофлору, що ґрунтуються

на здатності молочнокислих бактерій чинити пригнічувальну дію щодо промислово шкідливої та патогенної мікрофлори, практично не впливаючи на процес виробництва та властивості продукту. Пригнічення розвитку небажаної мікрофлори може досягатися внаслідок утворення молочнокислими бактеріями органічних сполук, таких як діацетил, перекис водню, органічних кислот, специфічних бактеріоцинів, а також внаслідок конкуренції за поживне середовище. На основі таких штамів молочнокислих бактерій створено захисні культури, які використовуються як додаткові до заквасок для виробництва різноманітних ферментованих продуктів, у тому числі твердих і напівтвердих сирів [9].

Очищення молока від мікроорганізмів здійснюється шляхом бактофугування. Клітини й спори мікроорганізмів та плазма молока мають різну густину, тому відокремлюються у бактофузі під дією відцентрової сили. Мікроорганізми і їх спори вилучаються у вигляді суспензії, що концентрується у знежиреному молоці. Об'єм бактофугату становить 2–4% оброблюваного молока. Залежно від рівня мікробіологічного забруднення сировини використання бактофугування дозволяє вилучити 80–98% спор та 85–98% вегетативних форм бактерій (табл. 2). Щоправда, під час такої обробки частково втрачається казеїн, а це зменшує вихід отриманого продукту і може позначитись на його якості – консистенція сирного тіста стає щільнішою, особливо у сирів з високою температурою другого нагрівання. Для досягнення оптимальної ефективності бактофугування проводять за температури 62–63 °С або пастеризації молока –  $72 \pm 2$  оС. Слід зазначити, що у разі значного забруднення молока спорами маслянокислих бактерій рекомендовано проводити подвійне бактофугування, що дозволяє зменшити кількість спорових мікроорганізмів понад 99%. Однак така обробка молока хоч і гарантує отримання сиру без ризику виникнення вад, але потребує значних матеріальних витрат.

Бактеріальну чистоту молока можна поліпшити за допомогою мікрофільтрації. Застосування напівпроникних керамічних мембран дозволяє значно знизити вміст бактерій у молоці без помітної втрати білків (див. табл. 2). Завдяки різниці тиску ком-

поненти, розмір яких менший від отворів мембрани, продавлюються крізь неї, тоді як відфільтровані компоненти залишаються у ретентаті. Блокуванню мембрани під час фільтрації запобігає значний потік ретентата, що рухається паралельно до її поверхні. Це явище отримало назву “поперечна фільтрація”.

Поєднання мікрофільтрації з пастеризацією дозволяє зменшити чисельність бактерій на 3–5 логарифмічні одиниці, що у 100–10 000 разів ефективніше, ніж використання лише пастеризації. Мікрофільтрація не суттєво впливає на технологічні властивості молока. Так, у дослідженнях Lidberg et al. [10] на 10–15% подовжувався час сичужного згортання, що зумовлено високотемпературною обробкою вершків і ретентата. Сири, вироблені з мікрофільтрованого молока, містили вологи на 0,5–1,0% більше, порівняно з контрольними сирами з пастеризованого молока, і дозрівали дещо довше.

Таким чином, високий рівень бактеріального забруднення молока-сировини спонукає сироварів вдаватися до різноманітних способів поліпшення його мікробіологічних показників. Ефективність зниження бактеріального забруднення залежить як від способу обробки молочної сировини, так і від складу її мікрофлори, що визначається умовами отримання, первинної обробки та транспортування молока.

#### Література

1. Te Giffel M.C. Validation of predictive models describing the growth of *L. monocytogenes* / M.C. Te Giffel, M.H. Zwietering // International Journal of Food Microbiology. – 1999. – № 46. – P. 135–149.
2. Anderson R.E. Effect of a heatresistant microbial lipase on flavour of Ultra-High temperature sterilized milk / R.E. Anderson, G. Danoelsson, C.B. Hedlund, S.G. Svensson // J. Dairy Sci. – 1981. – № 64. – P. 375–379.
3. Гудков А.В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты / Гудков А.В. / под ред. С.А. Гудкова. – М.: ДеЛи принт. – 2003. – 800 с.

4. Hanamant P.S. Proteolytic psychrotrophic *Bacillus cereus* from milk and fermented milk products / P.S. Hanamant, G.M. Bansilal // J. of Environmental Research And Development. – 2012. – № 3. – P. 660–666.
5. Флуер Ф.С. Энтеротоксины *Bacillus cereus* / Ф.С. Флуер // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2007. – № 2. – С. 105–110.
6. Шугай М.О. Термоінактивація фагів молочнокислих бактерій / М.О. Шугай, А.Л. Бойко // Вісник КНУ ім. Т. Шевченка. – 2004. – № 42–43. – С. 109–110.
7. Ганина В.И. Экология и органолептическая оценка сырого молока / В.И. Ганина // Переработка молока. – 2003. – № 8. – С. 8.
8. Шингарева Т.И. Производство сыра / Т.И. Шингарева, Р.И. Раманаускас. – Минск : ИВЦ Минфина. – 2008. – 384 с.
9. Шергин А.Н. Защитные культуры Danisco для предотвращения развития дрожжей и плесеней при производстве сыров / А.Н. Шергин // Сыроделие и маслоделие. – 2007. – № 3. – С. 45–46.
10. Lidberg E. Suitability of microfiltered cheese milk in the manufacture of Swedish hard cheese / E. Lidberg, B. Bredal // Scandinavian Dairy Information. – 1991. – № 2. – P. 20–23.