

МІНІСТЕРСТВО НАУКИ І ОСВІТИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет харчових технологій
Кафедра технологій та безпеки харчових продуктів

До захисту допускається

Завідувач кафедри технологій та
безпеки харчових продуктів
Марина САМІЛИК

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

за другим рівнем вищої освіти

на тему: **«РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ВИГОТОВЛЕННЯ М'ЯКИХ СИРІВ ІЗ
ВИКОРИСТАННЯМ НЕТРАДИЦІЙНОЇ СИРОВИНИ»**

Виконав: _____ **Євген ШАКЛЕІН**
(підпис) (прізвище, ініціали)

Група: ХТ 2023м ВН
(номер)

(Науковий) керівник: _____ **Юлія НАЗАРЕНКО**
(підпис) (прізвище, ініціали)

Суми 2024

Анотація

Євген Шаклеїн тема «Розробка технології виготовлення м'яких сирів із використанням нетрадиційної сировини».

Запропоновано визрівання сиру проводити у ферментованому виноградному листі.

Отриманий сир має унікальний фруктовий аромат, який, ймовірно, сформований внаслідок дії винних дріжджів. Інтенсивність аромату під час жування та після ковтання зростає. Сир мав м'яку кремову, майже рідкою, текстуру, характерну для сирів брі та камамбер. Колір тіста був світло-жовтим, з кремовим відтінком.

Порівняно з адигейським сиром у м'якому сирі, ферментованому у виноградному листі, спостерігався підвищений вміст білків (20%) та жирів (25%), що призвело до зростання енергетичної цінності сиру до 257 ккал.

У ферментованому сирі збільшувався вміст води до 82%.

В процесі зберігання рН сиру знижувалася з 4,98 до 4, що свідчило про накопичення молочної кислоти в процесі ферментації. Дріжджі є основними виробниками молочної кислоти, яка може знизити рН навколишнього середовища та надати антибактеріальний ефект. Антибактеріальний ефект зниження рН може бути вирішальним для пригнічення проліферації харчових патогенів.

Мікробіологічний аналіз показав, що ферментація сиру у виноградних листах призводить до накопичення молочнокислих бактерій до рівня 10^8 КУО в 1 см³.

Ключові слова: сир м'який, виноградне листя, ферментація, нетрадиційна сировина.

Abstract

Evgeny Shaklein, topic "Development of technology for the production of soft cheeses using non-traditional raw materials."

It is proposed to ripen the cheese in fermented grape leaves.

The resulting cheese has a unique fruity aroma, which is probably formed as a result of the action of wine yeast. The intensity of the aroma increases during chewing and after swallowing. The cheese had a soft, creamy, almost liquid texture, characteristic of brie and camembert cheeses. The color of the dough was light yellow, with a creamy shade.

Compared to Adyghe cheese, soft cheese fermented in grape leaves had an increased content of proteins (20%) and fats (25%), which led to an increase in the energy value of the cheese to 257 kcal.

The moisture content in fermented cheese increased to 82%.

In the process of storage, the pH of the cheese decreased from 4.98 to 4, which indicated the accumulation of lactic acid during the fermentation process. Yeast are the main producers of lactic acid, which can lower the pH of the environment and provide an antibacterial effect. The antibacterial effect of lowering the pH can be crucial in inhibiting the proliferation of foodborne pathogens.

Microbiological analysis showed that the fermentation of cheese in grape leaves leads to the accumulation of lactic acid bacteria up to the level of 10^8 CFU in 1 cm^3 .

Key words: soft cheese, grape leaves, fermentation, unconventional raw materials.

ЗМІСТ

ВСТУП	5
РОЗДІЛ I. АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ЗА ОБРАНОЮ ТЕМАТИКОЮ	9
1.1. Асортимент сиру	9
1.2. Характеристика мікробіоти сиру	15
Висновки до розділу 1	22
РОЗДІЛ II. ОРГАНІЗАЦІЯ, ОБ'ЄКТ, ПРЕДМЕТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	23
Висновки до розділу 2	25
РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ, ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ПРОДУКТУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ	27
3.1. Результати органолептичної оцінки м'якого сиру	27
3.2. Результати фізико-хімічної оцінки м'якого сиру	28
3.3. Результати мікробіологічної оцінки м'якого сиру	29
3.4. Технологія виготовлення м'якого сиру ферментованого у виноградному листі	31
Висновки до розділу 3	32
РОЗДІЛ IV. АНАЛІЗ ТЕХНОЛОГІЇ ТА ВИЗНАЧЕННЯ НЕБЕЗПЕЧНИХ ЧИННИКІВ ВИРОБНИЦТВА ХАРЧОВОЇ ПРОДУКЦІЇ	34
Висновки до розділу 4	42
РОЗДІЛ V РОЗРАХУНОК ОЧІКУВАНОВОГО ЕКОНОМІЧНОГО ЕФЕКТУ ВІД ВПРОВАДЖЕННЯ НОВОГО ПРОДУКТУ	43
Висновки до розділу 5	46
ВИСНОВКИ	47
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	48

ВСТУП

Сир виробляють і споживають тисячі років. У світі існує близько 1500 сортів сиру; кожен сорт демонструє специфічні сенсорні характеристики і, таким чином, демонструє різноманітність сирів з різними якісними характеристиками, такими як зовнішній вигляд, смак, аромат і текстура [1]. Ці сири добре пристосовані до місцевих умов навколишнього середовища, а також до знань і соціального становища сироварів. Або за допомогою кислоти, або зберігаючи молоко в шлунках забитих молодих тварин, виробництво сиру вперше ґрунтувалося на мікрофлорі сирого молока та «інокуляції» молока зразком продукту попереднього дня, тобто зворотним скиданням. .

До 20 століття сироваріння залишалося нерегульованим процесом. Запровадження пастеризації та відкриття та характеристика молочнокислих бактерій змінили погляди на спосіб виробництва сиру [2].

На початку 1960-х років були розроблені комерційні закваски для прямої інокуляції в ванну. Сьогодні виробництво сиру стало повністю автоматизованим процесом і вимагає великої кількості молока, повного контролю над процесом, використання пастеризованого молока та комерційних заквасок для стандартизованого та успішного виробництва будь-якого сорту сиру. Слід зазначити, що традиційні або крафтові та промислові сири виробляються за однаковими основними етапами виробництва сиру, залежно від типу сиру. Промислові є стандартизованими, мають постійну якість, забезпечують поживними всі поживні речовини сиру та пропонують зручність за економічною ціною для основної групи споживачів [3].

Натомість традиційні або крафтові сири виробляються місцево, як правило, виготовляються кустарно та використовують молоко однієї або обмеженої кількості ферм; ці сири мають сильний зв'язок із територією походження (тобто клімат, ландшафт, розвиток сільської місцевості та людські знання та ресурси) і тому є свідченням історії, культури та сільськогосподарського життя місцевих громад сироварів [3].

Органолептичні відмінності між сирами очевидні для більшості споживачів, частина споживачів визнає промислово виготовлені сири м'якими та ненадихаючими, а кустарні сири отримали велику частку продажів [4]. Таким чином, була розроблена нова група кустарних сирів; вони виготовляються за принципами традиційного способу в невеликих масштабах, але часто використовують передові практики та методи, які задовольняють оновлені міжнародні правила охорони здоров'я; при цьому зберігаючи традиційний процес сироваріння [4].

Традиційні сири разом пропонують багате розмаїття внутрішніх фізико-хімічних і органолептичних характеристик [3]. Багато особливих властивостей частково можна віднести до збагаченої та різноманітної мікрофлори багатьох традиційних сирів [5].

Мікроорганізми відіграють важливу роль у виробництві та дозріванні сиру, значною мірою сприяючи розвитку органолептичних властивостей завдяки їхньому метаболізму та різноманітній ферментативній активності, а також мікробіологічній безпеці через бар'єрні ефекти складної мікрофлори та виробництво кількох низькомолекулярних антимікробних сполук. Незважаючи на те, що було проведено широкі дослідження бактеріоцинів сирних бактерій для боротьби з патогенними мікроорганізмами в сирі, досі з'явилося лише кілька застосувань. Боротьба з псуванням дріжджів і цвілі традиційно здійснюється за допомогою хімічних добавок, але застосування нових протигрибкових захисних культур є дуже перспективним, особливо для сирної промисловості.

Нещодавно також було показано, що природна мікрофлора сиру може ефективно запобігати розвитку патогенних мікроорганізмів або мікроорганізмів, що викликають псування.

Сир також є дуже придатним, але недостатньо використовуваним носієм для доставки пробіотичних бактерій, що забезпечує користь для здоров'я господаря, з певними перевагами порівняно з ферментованим молоком і йогуртами, такими як висока життєздатність клітин. У цьому огляді розглядаються останні розробки у застосуванні захисних культур (з

бактеріоциновою та протигрибковою активністю) або мікрофлори з бар'єрними ефектами, а також пробіотичних культур для виробництва високоякісного, безпечного та «здорового» сиру, а також підкреслюються деякі основні проблеми. і можливі рішення. Крім того, обговорюються нові критерії безпеки для харчових культур, що стосуються наявності та можливості передачі генів стійкості до антибіотиків.

Очевидно, що за останні роки знання мікробіології сиру значно розширилися. Тим не менш, сир залишається екосистемою, яка настільки ж складна, як і переконлива. Різноманітність і складність взаємодій, що встановлюються в сирі між мікробними групами один з одним, а також між мікроорганізмами та різними факторами навколишнього середовища вказують на те, що ще багато аспектів потрібно відкрити та з'ясувати. Будь-яке нове знання, зібране в цій галузі, стане суттєвою допомогою у вирішенні цієї наукової сфери. Це дозволить прогресувати в отриманні більш диференційованих сирів із набагато сильнішою індивідуальністю та більш дивовижними сенсорними властивостями, забезпечуючи при цьому абсолютну мікробіологічну безпеку.

Винні дріжджі, відмінні від *Saccharomyces*, можуть бути ефективною альтернативою для боротьби з грибковими патогенами у сирах, але попередні знання про цільовий патоген та умови навколишнього середовища в полі є важливими для успішного біоконтролю. Потрібні подальші дослідження, щоб розробити агенти біоконтролю винних дріжджів, які не містять *Saccharomyces*, які є ефективними, стійкими до обмежень поля та рецептури, а також перспективними для процесу ферментації сиру.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дане дослідження виконувалося в межах тематики кафедри технологій та безпечності харчових продуктів «Розробка технологій виробництва харчових продуктів з доданою вартістю на принципах сталого розвитку».

Мета і задачі дослідження. Метою даного дослідження є - розробка технології виготовлення м'яких сирів із використанням нетрадиційної сировини.

Об'єкт дослідження: технологія виготовлення м'яких сирів із використанням ферментованого виноградного листа.

Предметом дослідження кваліфікаційної роботи є ферментоване виноградне листя, сир м'який.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що вперше запропоновано проводити визрівання сиру у ферментованому виноградному листі.

РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ЗА ОБРАНОЮ ТЕМАТИКОЮ

1.1. Асортимент сиру

Сир — це дуже різноманітна група продуктів (можливо, близько 1500 видів). На допомогу споживачам, роздрібним торговцям і технологам сиру запропоновано і використовується кілька схем класифікації сиру. Критерії класифікації включають: коагулянт (сичужний фермент або кислота); текстура/вологість (дуже твердий, твердий, напівтвердий, напівм'який, м'який); дозрілі або свіжі; мікрофлора (внутрішня бактеріальна, поверхнева/мазкова бактеріальна, внутрішня або поверхнева пліснява, пропіоновокислі бактерії).

З сирого молока виготовляють різноманітні кустарні сири, і мікробіота сирого молока є важливою частиною кінцевої мікробіоти сирів [5]. Загальноприйнято вважати, що сир, виготовлений із сирого молока, дозріває по-іншому та має більш інтенсивний смак, ніж сир, виготовлений із пастеризованого молока.

Основними характеристиками сирів із сирого молока є те, що виробництво та дозрівання здійснюються складною мікробною спільнотою. Таким чином, мікробні спільноти є ключовим гравцем у розвитку якісних властивостей сиру. Крім того, з точки зору безпеки, мікробні спільноти сирого молока можуть діяти як біоконсервантний щит від патогенних мікробів і популяцій, що викликають псування [6].

Нещодавно було опубліковано низку досліджень різноманітності мікробного сиру, які поєднують фенотипові та генотипові підходи, що розкриває складність таких спільнот [7, 8].

Різні мікробні консорціуми з технологічного середовища розвинули «внутрішню» мікрофлору, яка є ідентичною конкретному молочному підприємству, і це, можливо, пояснює додаткову різноманітність характеристик сиру, виражених кожним сортом сиру [9].

Для спеціальних сортів сиру розроблено комерційні культури дозрівання дріжджів [10]; сюди входять відібрані штами *G. candidum* у виробництві сирів з пліснявою на поверхні [11]; види *K. marxianus*, що ферментують лактозу, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae* і *Debaryomyces hansenii*, у дозрілих сирах з цвіллю та блакитними сирами [7], [12], [13].

Ризики та переваги традиційних сирів, головним чином сирів із сирого молока, рідко викладаються об'єктивно, звідки виникають постійні плутані дебати щодо їхніх плюсів і мінусів. Мікробне різноманіття, що лежить в основі переваг сиру з сирого молока, залежить як від мікробіоти молока, так і від традиційних методів, включаючи практику інокуляції.

Традиційне ноу-хау від землеробства до переробки сиру допомагає підтримувати як багатство мікробіоти в окремих сирах, так і різноманітність між сирами під час переробки.

Всього в сирому молоці виявлено понад 400 видів молочнокислих бактерій, грам- і каталазопозитивних бактерій, грамнегативних бактерій, дріжджів і плісняви. Це біорізноманіття зменшується в серцевині сиру, де чисельно домінує невелика кількість видів молочнокислих бактерій, але зберігається на поверхні сиру, де містяться численні види бактерій, дріжджів і плісняви.

Різноманітність між сирами зумовлена, зокрема, великими варіаціями в динаміці одного виду в різних сирах. Смак більш інтенсивний і насичений у сирів із сирого молока, ніж у плавлених. Це головним чином тому, що рясна місцева мікробіота може виявлятися в сирах із сирого молока, чого не можна сказати про сири, виготовлені з пастеризованого або мікрофільтрованого молока.

Порівняно з комерційними штамами, місцеві молочнокислі бактерії, виділені з молока/сиру, а також поверхневі бактерії та дріжджі, виділені з традиційних розсолів, асоціювалися зі складнішими леткими профілями та вищими балами для деяких сенсорних атрибутів. Здатність традиційних сирів боротися з патогенами більше пов'язана з місцевими антипатогенними штамами

або мікробними консорціумами, ніж з природним немікробним інгібітором(ами) з молока.

Зовсім інша місцева мікробіота може захистити від *Listeria monocytogenes* у сирах (як у серцевині, так і на поверхні) і на дерев'яних поверхнях традиційного обладнання. Гальмування, здається, пов'язане з їх якісним і кількісним складом, а не зі ступенем їх різноманітності. Інгібіторні механізми недостатньо вивчені. Як перехресні, так і когортні дослідження засвідчили сильний зв'язок споживання сирого молока із захистом від алергічних/атопічних захворювань; необхідні подальші дослідження, щоб визначити, чи поширюється така асоціація на традиційне споживання сиру з сирого молока [14].

Сир - це складна мікробна екосистема, що містить мікроорганізми, які або навмисно додаються, або потрапляють у молоко, сир або сир як забруднювачі.

З технологічної точки зору мікробіоту сиру можна класифікувати за такою схемою [15, 16]:

- первинні закваски, що складаються з молочнокислих бактерій, які «запускають» бродіння і, отже, підкислення молока і сиру;
- вторинні додаткові культури, що містять різні види бактерій, дріжджів і плісняви, які навмисно додають до молока, сирної маси, поверхні сиру або внутрішньої частини попередньо проколотої маси під час виробництва блакитних сирів, з метою участі в дозріванні сиру та розвитку сенсорних характеристик;
- вторинна випадкова мікробіота, що складається з мікроорганізмів, які спонтанно забруднюють молоко чи сир на будь-якій стадії виробництва та сприяють, подібно до додаткових культур, розвитку характерного зовнішнього вигляду, текстури та смаку різного сиру сорти, але які час від часу спричиняють дефекти та неприємні присмаки.

Вважається, що сири, виготовлені із сирого молока (особливо з овечого чи козячого молока, або великої рогатої худоби, вирощеної екстенсивними методами), мають більш насичений і насичений смак, ніж сири, виготовлені з пастеризованого або мікрофільтрованого молока. Рідна мікробіота, присутня в

сирому молоці, здається, головним чином відповідає за типові сенсорні властивості та розвиток смаку цих продуктів.

Тим не менш, слід взяти до уваги, що мікробне різноманіття сирого молока (особливо сирого коров'ячого молока) опинилося під серйозною загрозою в промислово розвинутих країнах внаслідок дотримання суворих гігієнічних умов на фермах і під час доїння, а також при зберіганні в низькі температури. У деяких поточних виробництвах традиційних сирів з сирого коров'ячого молока присутність випадкових бактерій, таких як ентерококи, різко зменшилася порівняно з тими, що аналізувалися кілька десятиліть тому, і деякі смакові властивості, швидше за все, втрачаються [17].

Щоб контролювати дозрівання сиру, перший і найбільш цілеспрямований підхід полягав би в ізоляції та відборі автохтонних мікробних культур, повертаючи їх сироварам для виробництва різних сортів сиру. Цей вибір дозволив би частково відновити смак на виробництвах, де використання сирого молока обмежено, або де сире молоко зазнало покращення його мікробіологічної якості та подальшої модифікації його «традиційної» мікробіоти. Використання відібраних додаткових мікробних культур може підвищити типовість сирів із захищеним найменуванням походження, що призведе до ближчої сенсорної якості до традиційних продуктів [18].

Різні смаки та текстури сиру є результатом варіацій у типі молока, кількості жиру в молоці, бактеріях, які використовуються для сквашування молока, та умовах обробки. Сири можуть бути зрілими або незрілими, м'якими або напівтвердими, твердими або дуже твердими [19].

Для всієї цієї групи м'які сири є найпростішими у виготовленні, і вони популярні в багатьох країнах, оскільки це традиційна їжа. М'які сири, виготовлені з сирого молока, створюють різноманітні смаки, які деякі споживачі сприймають схвально, а також пов'язані з виробництвом.

М'які сири сильно відрізняються за харчовим складом залежно від того, чи належать вони до зрілих чи недозрілих сортів. Свіжі незрілі сири, такі як сир,

мають низький вміст жиру, відносно низький вміст кальцію, високий вміст вологи та містять неферментовану лактозу.

Також доступні версії з дуже низьким вмістом жиру. Однак сир з поверхневою пліснявою, такий як брі або камамбер, містить високу частку жиру та білка та менше води. М'які сири з пліснявою мають трохи нижчий вміст жиру, ніж традиційні тверді сири. Додавання солі є важливою частиною процесу виготовлення сиру. Сіль додається, щоб зберегти сир і підкреслити смак.

М'який сир — це свіжий кислий сир, ферментований при значеннях рН $\sim 4,5$ – $4,8$ за допомогою молочнокислих бактерій [20].

Колоїдний фосфат кальцію розчиняється в міцелах казеїну під час підкислення молока. Якщо рН падає нижче $5,0$, більшість розчиняється, відокремлюючи міцели від казеїну. Коли рН у молоці досягає значення $\sim 4,6$, негативне поверхнєве навантаження на міцели казеїну зменшується настільки, що утворюється структура гелю. Стійкість кисло-молочних гелів можна підвищити або попереднім нагріванням молока, або додаванням невеликої кількості сичужного ферменту.

Термічна обробка молока вище 69°C денатурує пов'язані з казеїном сироваткові білки. Агрегація $\beta\text{-lg}$ з β -казеїном зменшує чистий заряд відштовхування між казеїнами, тим самим покращуючи взаємодію між білками та міцність гелю.

З іншого боку, додавання невеликої кількості сичужного ферменту (хімозину) на початку бродіння викликає сильнішу мережу білків, що підвищує міцність молочних гелів. Хімозин гідролізує казеїни, які генерують параказеїн (переважно κ -казеїн) і глікомакропептид.

Вершковий сир — це свіжий кислий сир, ферментований молочнокислими бактеріями при значеннях рН $\sim 4,5$ – $4,8$ [21, 22]. Під час підкислення молока колоїдний фосфат кальцію у міцелах казеїну розчиняється [23].

Якщо рН знижується нижче $5,0$, більша частина ССР розчиняється, а міцели казеїну стають дисоційованими. Коли рН у молоці досягає значення $\sim 4,6$,

негативний поверхневий заряд на міцелах казеїну буде зменшено настільки, щоб викликати утворення гелевої структури [24].

Твердість кисло-молочних гелів можна покращити або попередньою термічною обробкою молока [25], або невеликим додаванням сичужного ферменту. Термічна обробка молока вище 69 °C денатурує сироваткові білки і α -лактальбумін, які зв'язуються з казеїнами. Агрегація β -lg з κ -казеїном зменшує сумарний заряд відштовхування серед казеїнів, підвищуючи взаємодію білок-білок і, таким чином, міцність гелю [26].

З іншого боку, додавання невеликої кількості сичужного ферменту (хімозину) на початку бродіння індукує більш грубу мережу білків, що підвищує твердість молочних гелів [23].

Хімозин гідролізує казеїни (переважно κ -казеїн), утворюючи *пара*- κ -казеїн і глікомакропептид. Однак недостатньо ясно, як вивільнення цих фрагментів казеїну покращує взаємодію між білками під час утворення кисло-молочних гелів [27]. Крім того, немає інформації про вплив інших протеаз, крім хімозину, на утворення кисло-ферментативних гелів.

Протягом століть коагулянт, який використовується для виготовлення сиру, отримували з телячого шлунку (телячий сичуг). Нині тільки телячий сичужний фермент не може задовольнити нинішню потребу в коагуляційних ферментах для виробництва сиру. Рекombінантний хімозин *Bos taurus* і коагулянти мікробного походження є альтернативними ферментами згортання молока, які сьогодні широко використовуються в молочній промисловості [28].

Коагулянти рослинного походження також досліджувалися як можливі замітники телячого сичуга, хоча насправді лише деякі з них використовуються для комерційного виробництва сиру [29].

Більшість рослинних протеаз не є придатними агентами згортання молока через їх надмірну протеолітичну природу або низьке співвідношення активності зсідання молока до протеолітичної активності [28,29].

Однак деякі протеази рослинного походження успішно використовуються у виробництві комерційних сирів, наприклад, коагулянти рослинного

походження, отримані з *Cynara cardunculus* L. і деяких рослин *Solanum*. Аспарагінові протеази з *Cynara* sp. використовуються для виробництва великої різноманітності сирів у Середземномор'ї, Західній Африці та країнах Південної Європи. Тим часом, рослинні коагулянти з *Solanum dubium* Fresen і *Solanum elaeagnofolium* Cavanilles використовуються у виробництві комерційних сирів у Судані [30] і Мексиці [31].

Додавання сичужного ферменту під час утворення гелю в кислих сирах (як вершковий сир) прискорює згортання молока та індукує більш грубу білкову мережу, що підвищує міцність гелю

1.2. Характеристика мікробіоти сиру

У багатьох сортах сиру різні види та штами дріжджів, поверхневих бактерій, LAB та/або цвілі можуть виявляти симбіотичні ефекти, які сприяють розвитку органолептичних характеристик. Тому важливо дослідити взаємодію в цих складних мікробних спільнотах, щоб провести адекватний відбір мікробних культур і отримати певний ступінь контролю в мікробній екосистемі сиру.

У минулому дослідження в цій галузі покладалися виключно на класичні мікробіологічні методи або методи, залежні від культури, які не підходять для роботи з великою кількістю ізолятів і які не в змозі відобразити субдомінантні популяції, які можуть бути витіснені *in vitro* більш поширеними видами мікробів.

Протягом 1990-х років розробка ряду методів на основі молекулярної ПЛР дозволила швидко ідентифікувати окремі ізоляти на рівні виду та штаму та призвела до впровадження та широкого використання незалежних від культури методів у більшості лабораторій харчової мікробіології. Впровадження цих методів дозволило поглибити розуміння складної мікробної екосистеми сиру, заглибившись у динаміку та взаємодію мікробіоти та її вплив на дозрівання та якість сиру.

З іншого боку, розробка методів газової хроматографії та ольфактометрії у вільному просторі дозволила пов'язати хімію смаку сиру безпосередньо з відбором мікробних культур [32].

Наприкінці 2000-х років подальший прогрес у вивченні мікробної екосистеми сиру був досягнутий завдяки розробці нових культурально-незалежних технологій «omics», які включали методи на основі секвенування наступного покоління, такі як метагеноміка та метатранскриптоміка. ДНК і РНК відповідно.

Технології секвенування наступного покоління дозволяють високопродуктивне секвенування загальної мікробної ДНК або РНК і таким чином досліджувати весь мікробний геном без попереднього культивування. Поєднання метагеноміки на рівні штаму з метаболомікою (орієнтація на такі метаболіти, як летючі сполуки) дозволяє дослідникам оцінити вплив конкретних штамів на смак сиру. Зв'язок між леткими сполуками і метагеномними кластерами видів являє собою нову систему для вивчення розвитку смаку в сирі [33].

Мультиомічний підхід видається найкращим рішенням для кореляції динамічної мікробної екології (різноманітності, спадкоємності та взаємодії в мікробних спільнотах) і метаболізму при виготовленні та дозріванні сиру [34].

Однак для розшифровки мікробіома сиру потрібне культивування штамів, і завжди слід наполегливо заохочувати широку колекцію автохтонних мікроорганізмів. В даний час для дослідження мікробних спільнот і профілювання їх динаміки в сирі все частіше рекомендується поєднання результатів, отриманих за допомогою методів, що залежать від культури, і методів «omics».

Статті, включені до цього спеціального випуску, демонструють важливі та цікаві досягнення та нові підходи в галузі мікробіології сиру. У наступному розділі ми коротко представимо кожен відповідний внесок.

Мікроорганізми родини *Enterobacteriaceae* є важливою групою мікробів у сирі. Це бактерії фекального походження, які можуть потрапити до сиру різними

шляхами. *Enterobacteriaceae*, як правило, є результатом забруднення молока фекальними матеріалами внаслідок гігієнічних недоліків під час доїння або обробки молока на фермах, але вони також можуть досягати сиру в результаті гігієнічних недоліків під час виготовлення сиру або використання забрудненої води [35].

Наявність *Enterobacteriaceae* в сирі, крім вказівки на погані гігієнічні умови, може мати різноманітні та загалом негативні наслідки. Деякі види, що належать до родів *Salmonella*, *Shigella* або *Escherichia*, можуть виробляти токсини та є важливими патогенами, що передаються сиром [36-39].

З технологічної точки зору, ентеробактерії, здатні ферментувати лактозу (коліформи), можуть здійснювати небажане бродіння, якщо присутні у високій кількості в молоці, спричиняючи дуже поширений дефект у технології сиру, відомий як раннє видування [40].

В одній із статей [41] оцінено гігієнічний статус каріша, популярного єгипетського свіжого сиру з сирого молока, проаналізувавши 200 зразків сиру на загальні та фекальні коліформи. Вони помітили, що 65% зразків містили коліформи, здатні рости при 44,5 °C. Вони відновили 150 термотолерантних штамів, які були додатково ідентифіковані та охарактеризовані на антимікробну сприйнятливість і продукування β -лактамази та β -лактамази розширеного спектру дії, а потім провели молекулярний аналіз для визначення наявності генів вірулентності та стійкості до антибіотиків.

Зі 150 виділених термотолерантних штамів 140 (93,3%) були ідентифіковані як *Escherichia coli*. Вважаючи найвидатнішим результатом, автори виявили один штам *E. coli*, що продукує токсин Шига, який несе вражаючий тип вірулентності. Одинадцять штамів (7,8%) показали стійкість до цефалоспоринів третього покоління, а гени стійкості до антибіотиків були присутні у 4,3%, 2,8%, 0,71%, 2,1% і 0,71% ізолятів відповідно.

Це дослідження засвідчило низьку гігієнічну якість більшості роздрібних каришських сирів, і його висновки підтверджують необхідність використання резистентної до цефалоспоринів третього покоління *E. coli* як індикатора для

моніторингу антимікробної резистентності сиру з сирого молока з метою виявлення потенційних ризиків для здоров'я населення пов'язані з його споживанням.

Як зазначено вище, присутність *Enterobacteriaceae* у сирі зазвичай демонструє небажані ефекти, але іноді наявність певних видів може сприяти розвитку типового сенсорного профілю сирів. Автохтонні види *Enterobacteriaceae* можуть бути частиною типової мікробіоти сирів з поверхневим дозріванням, таким чином беручи участь у розвитку їх органолептичних властивостей.

Ritschard та ін. [42] досліджували чисельність і вплив природних грамнегативних бактерій у мазку поверхнево дозрілих сирів. Вони проаналізували зразки мазка з 15 поверхнево дозрілих напівтвердих швейцарських сирів різних сортів і спостерігали несподівано високу кількість і різноманітність протеобактерій.

Proteus і *Morganella* були найбільш домінуючими родами, але також часто зустрічалися *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Hafnia* і *Serratia*. Чотирнадцять відібраних ізолятів були додатково перевірені на їх протеолітичну та ліполітичну активність, і ізоляти *Proteus* показали сильну протеолітичну активність. Нарешті, автори проаналізували леткі речовини, присутні на поверхнях сирних мазків, які, як відомо, містили різні протеобактерії, і спостерігали профіль летких сполук, які, як відомо, виробляються видами *Enterobacteriaceae*.

Enterococcus, безсумнівно, є найбільш суперечливим родом у LAB з подвійною роллю шкідливого та корисного, яка широко описана та обговорюється в літературі. Враховуючи їх особливу стійкість до суворих умов навколишнього середовища, ентерококи широко поширені [43].

З огляду на їхню роль у харчових продуктах загалом і в сирі зокрема, а також через їх постійну та характерну присутність у кишковому тракті людини та ссавців на додаток до їх стійкості, вони спочатку використовувалися як індикатори фекального забруднення [44, 45].

Однак у міру того, як знання про характеристики різних видів цього роду розширювалося, цим бактеріям було призначено нові ролі, і з'явилися нові можливості щодо їх використання як інструментів для покращення різних аспектів харчових продуктів, таких як якість, безпека тощо.

Оглядова стаття Terzic-Vidojevic et al. [46] узагальнює сучасні знання про безпеку, технологічні властивості та пробіотичні здібності ентерококів, виділених із сирного молока, підкреслюючи переваги та недоліки їх присутності в сирах. Після початкового розгляду аспектів безпеки використання *Enterococcus* spp. у молочних продуктах автори заглиблюються в технологічні властивості видів, присутніх у традиційних продуктах харчування, зокрема в сирах, аналізуючи та описуючи їх підкислюючу, протеолітичну та ліполітичну активність, а також їхню здатність виробляти ароматичні сполуки, головним чином через метаболізм цитратів.

Крім того, багато штамів ентерококів, виділених із молочних продуктів, продемонстрували пробіотичні ефекти, і їхній позитивний вплив на здоров'я людей і тварин змусив деякі з цих штамів включити до комерційних пробіотичних продуктів.

В останньому розділі своєї статті Terzic-Vidojevic et al. аналізують фізіологічні основи та механізми пробіотичної дії ентерококів. Автори дійшли висновку, що через здатність різних штамів переносити різні фактори вірулентності необхідна велика кількість тестів *in vitro* та *in vivo*, щоб переконатися в безпеці та придатності кожного конкретного штаму перед його використанням у виробництві ферментованих харчових продуктів.

Тим не менш, на основі проведених досліджень і опублікованих даних можна зробити висновок, що не існує ані абсолютно безпечних, ані абсолютно небезпечних видів ентерококів для здоров'я людини, і що всі їхні позитивні чи негативні властивості залежать від штаму.

Таким чином, існують певні нешкідливі штами, які демонструють видатний метаболічний профіль і фізіологічні властивості для використання у

виробництві молочних продуктів найвищої сенсорної якості або зі сприятливим пробіотичним ефектом для здоров'я споживача.

У рамках цієї теми та в наступній статті Lauková et al. [47] виділили та ідентифікували желатиназонегативні негемолітичні штами *Enterococcus durans*, більшість з яких були чутливі до комерційних антибіотиків. Серед них конкретний штам під назвою *E. durans* продемонстрував особливі корисні властивості. Він був безпечним, не мав генів фактора вірулентності, таких як гіалуронідаза, елемент IS 16 і желатиназа, і не викликав смертності у мишей.

Що стосується його корисних властивостей, цей штам дає найбільшу кількість β -галактозидази, а також продукує бактеріоцин, який демонструє хорошу інгібіторну активність проти грампозитивних бактерій (*Enterococcus avium* EA5, *Staphylococcus aureus* SA5 і *Listeria spp.*, а також багатьох інших штамів стафілококи та ентерококи). Автори дійшли висновку, що це перспективний штам для використання в молочних продуктах.

Завдяки своїй гліколітичній, протеолітичній та ліполітичній активності, а також здатності метаболізувати цитрат молока, мікроорганізми є основними гравцями в текстурі та смакових властивостях сирів. Кожен сорт сиру має власну унікальну мікробіоту, метаболічна активність якої визначає особливі характеристики кінцевого продукту. Ідентифікація мікробних видів, що зустрічаються в сирі, і встановлення взаємозв'язку між їх метаболічною здатністю та хімічними та фізичними змінами, які відбуваються в сирі під час процесу дозрівання, проводилися за допомогою класичних методів, як згадувалося раніше.

По-перше, це включало підрахунок мікробних груп за допомогою селективних культуральних середовищ, виділення та ідентифікацію штамів класичними біохімічними методами (включаючи, іноді, деякі молекулярні тести) та з'ясування їх метаболічних здібностей. Далі ці здібності корелювали з гліколітичними, протеолітичними та ліполітичними змінами, які відбуваються під час дозрівання сиру і які також вивчали за допомогою класичних інструментальних методів (електрофорез, ГХ, ВЕРХ тощо). Проте сучасні

аналітичні методи дозволили швидше та точніше визначити мікробіом сиру та краще зрозуміти його лідерство в органолептичних ознаках.

Поверхнева мікрофлора м'яких сирів має чіткі відмінності. Дріжджова флора складається з двох домінуючих дріжджів, *D. hansenii* та *Geotrichum candidum*. Окрім численних коринеформних бактерій кремового кольору (*Corynebacterium* spp.), високий відсоток жовтих коринеформних бактерій *Arthrobacter nicotianae* та *Microbacterium* sp. спостерігається. Хоча зазвичай 20-50% флори, на деяких фабриках відсоток може становити близько 100% від загальної кількості клітин.

Brevibacterium linens і *Staphylococcus* spp. показують нормальну низьку кількість клітин, як це спостерігається для напівм'яких сирів. Типовою знахідкою для французького сиру Chaumes протягом кількох років були помаранчеві види *Micrococcus*, мікроскопічно великі диплококи. Наявність високого відсотка стійких до солі рухливих паличок (*Halomonas* sp.) була типовою для одного виробника сиру, оскільки завжди виявляється на сирах протягом кількох років. Ступінь забруднення ентерококами і ентеробактеріями зазвичай вище, ніж у напівм'яких сирів [48].

Зазвичай *D. hansenii* та *G. candidum* складають 20–50% поверхневої мікрофлори, але для деяких різновидів цей відсоток може досягати близько 100% від загальної кількості коринеформ. Кількість білизни *Brevibacterium* зазвичай низька (1–10% коринеформ), іноді можна виявити більшу кількість; помаранчевий колір сиру м'яких сирів не пов'язаний з білизнаю. У флорі часто відсутні стафілококи. Однією з причин може бути часта пастеризація сирних розсолів, яка застосовується на деяких сироварнях для запобігання надмірного росту дріжджів домашньої флори [49].

Аналіз комерційних зразків сиру показав, що у поверхневій флорі напівм'яких тильзитських сирів домінують види *Corynebacterium*.

Крім того, виявлено *D. hansenii*, *S. equorum* і *B. linens* із великим ступенем варіації кількості клітин між зразками з одного сорту сиру. Змашені м'які сири завжди характеризуються появою вторинних дріжджів *G. candidum*. *S. equorum*,

типовий для напівм'яких сирів, у зразках м'якого сиру не виявлено. Домінуючими бактеріями для м'яких сирів є жовтопігментовані *M. gubbeenense* або *A. nicotianae*. Попередні результати показують домінування *M. gubbeenense* [50].

Висновки до розділу 1

1. М'який сир - це свіжий кислий сир, ферментований при значеннях рН 4,5–4,8 за допомогою молочнокислих бактерій.
2. Смак більш інтенсивний і насичений у сирів із сирого молока, ніж у плавлених.
3. З технологічної точки зору, ентеробактерії, здатні ферментувати лактозу (коліформи), можуть здійснювати небажане бродіння, якщо присутні у високій кількості в молоці, спричиняючи дуже поширений дефект у технології сиру. Пригнічувати їх розвиток здатні винні дріжджі.

РОЗДІЛ II. ОРГАНІЗАЦІЯ, ОБ'ЄКТ, ПРЕДМЕТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проведено в лабораторії «Крафтових технологій та гастрономічних інновацій» СНАУ згідно схеми (рис.1.)

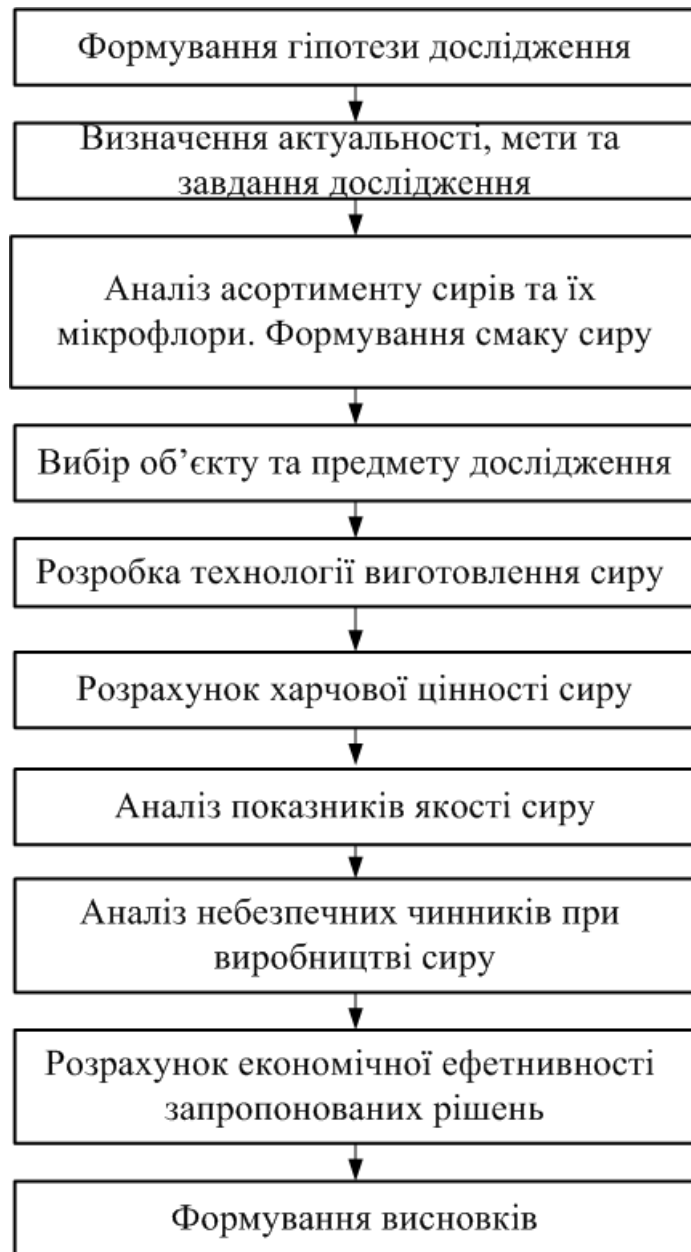


Рис.1. Схема проведення досліджень

Із незбираного молока, придбаного на ринку м.Сум, виготовляли м'який адигейський сир з традиційною технологією. Після соління головки сиру огортали у ферментоване виноградне листя (рис.2).



Рис.2. Підготовка сиру до ферментації

Ферментоване листя готували самостійно. Для цього обривали зелене листя середніх розмірів із лози винограду сорту «Лідія». Протирали сухим рушником, скручували та поміщали у пластикову пляшку. Після щільного наповнення, пляшку закривали і поміщали в холодильник (температура 4-6°C) для ферментації. Тривалість ферментації – 30 діб.

Ферментація виноградного листя відбувається за рахунок винних дріжджів, які містяться на поверхні виноградного листя.

Винні дріжджі, що не містять *Saccharomyces*, діють як біопротектори та агенти біоконтролю проти фітопатогенів і організмів, що викликають псування. Таким чином, винні дріжджі, що не містять *Saccharomyces*, мають потенціал як екологічно чисті інструменти для покращення аспектів стійкості сиру при зберіганні.

У той же час дріжджі, що не містять *Saccharomyces*, мають здатність виробляти ферменти, важливі для енології. Пектинази є найбільш поширеними і широко використовуваними ферментами у виноробстві, які розщеплюють пектин і пектинові речовини, присутні в клітинних стінках ягід винограду. Ці ферменти разом з іншими спорідненими полісахаридазами сприяють покращенню виходу соку, освітленню та здатності до фільтрації, а також вивільненню поліфенольних, кольорових і ароматичних сполук, ув'язаних у шкірці винограду, позитивно впливаючи на процес виноробства та глобальну якість вина. Нами було досліджено їх вплив на структуру сиру.

Об’єкт дослідження: технологія сиру ферментованого у виноградному листі.

Предметом дослідження кваліфікаційної роботи є ферментоване виноградне листя (рис.3), м’який сир.



Рис.3. Ферментоване виноградне листя

Методи досліджень. Всі дослідження проводили за стандартними загально прийнятими методиками. Визначали масову частку жиру, сухих речовин, білків, а також проводили сенсорну оцінку шляхом дегустації.

Таблиця 2.1 - Дескриптори органолептичної оцінки сирів

Найменування показників	Характеристика
Зовнішній вигляд	Поверхня чиста без механічних ушкоджень, пружна, може мати відбиток перфорації
Смак і запах	Сирний, кисломолочний, без сторонніх присмаків та запахів, властивий конкретному сиру. Дозволено: злегка кислуватий, гострий, пікантний, аміачний, солоний з легкою гіркотою
Консистенція	Дозволено: мазка, злегка ламка або крихка, в міру щільна
Колір тіста	Від білого до світло-жовтого з кремовим відтінком рівномірний за всією масою

Закінчення таблиці 2.1

Найменування показників	Характеристика
Рисунок	Тісто без вічок. Дозволено наявність невеликих пустот
Форма	Прямокутний брусок, циліндр або інша форма

Загальну кількість життєздатних молочнокислих бактерій у сирах визначали згідно ДСТУ IDF 100B-2003.

Оцінку кислотності сиру проводили методом титрування. Дослідження вологи в сирі здійснювали експрес-методом.

Розрахунок енергетичної цінності сирів здійснювали за наступною формулою:

$$E = k_b \times (M_b + M_v) + k_j \times M_j, \quad (1)$$

де E – енергетична цінність, ккал;

M_b – масова частка білка, г/100 г продукту;

M_v – масова частка вуглеводів, г/100 г продукту;

M_j – масова частка жиру, г/100 г продукту;

$k_b = 4$ – коефіцієнт енергетичної цінності 1 г білка чи 1 г вуглеводів у продукті, ккал/г;

$k_j = 9$ – коефіцієнт енергетичної цінності 1 г жиру в продукті, ккал/г.

Висновки до розділу 2

1. Підібрано методику проведення досліджень та розроблено схему проведення експерименту.
2. Запропоновано деескриптори органолептичної оцінки сиру.
3. Описано деталі проведення експерименту.
4. Представлено формулу для розрахунку харчової цінності сиру.

РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ, ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ПРОДУКТУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ

3.1. Результати органолептичної оцінки м'якого сиру

Дегустацію сиру було проведено після 7 діб ферментації.



Рис.4. Сир ферментований у виноградному листі

Після семи діб ферментації консистенція сиру стає більш м'якою.

Результати представлено в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 – Органолептична оцінка сиру ферментованого у виноградному листі

Найменування показників	Характеристика
Зовнішній вигляд	Поверхня вкрита листям, пружна
Смак і запах	Запах сирний, кисломолочний, з фруктовим ароматом. Смак пікантний, аміачний, солоний з легкою кислинкою
Консистенція	Дозволено: мазка, м'яка

Закінчення таблиці 3.1

Найменування показників	Характеристика
Колір тіста	Світло-жовтий з кремовим відтінком рівномірний за всією масою
Рисунок	Тісто без вічок, мазке.
Форма	Циліндр

Отриманий сир має унікальний фруктовий аромат, який, ймовірно, сформований внаслідок дії винних дріжджів. Інтенсивність аромату під час жування та після ковтання зростає. Сир мав м'яку кремову, майже рідкою, текстуру, характерну для сирів брі та камамбер. Колір тіста був світло-жовтим, з кремовим відтінком.

3.2. Результати фізико-хімічної оцінки м'якого сиру

Фізико-хімічні показники сиру відіграють важливу роль не лише у формуванні харчової цінності, а й споживчих властивостей. Показники ферментованого сиру порівнювали із показниками адигейського сиру виготовленого за традиційною технологією. Результати представлені в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2 – Фізико-хімічні властивості м'якого сиру

Показник	Сир ферментований у виноградному листі	Адигейський сир
Вологість, %	82	60
Вміст білків, %	20	16,5
Вміст жирів, %	25	18
Вміст вуглеводів, %	0	0
Енергетична цінність, кКал	257	235

Результати фізико-хімічної оцінки показали, що отриманий сир за всіма показниками нагадував сир камамбер. Порівняно з адигейським сиrom у ньому спостерігався підвищений вміст білків (20%) та жирів (25%), що призвело до зростання енергетичної цінності сиру.

Крім того, у ферментованому сири збільшувався виіст вологи до 82%.

Також, було досліджено зміну активної кислотності сиру в процесі зберігання. Результати представлено на рис.5.

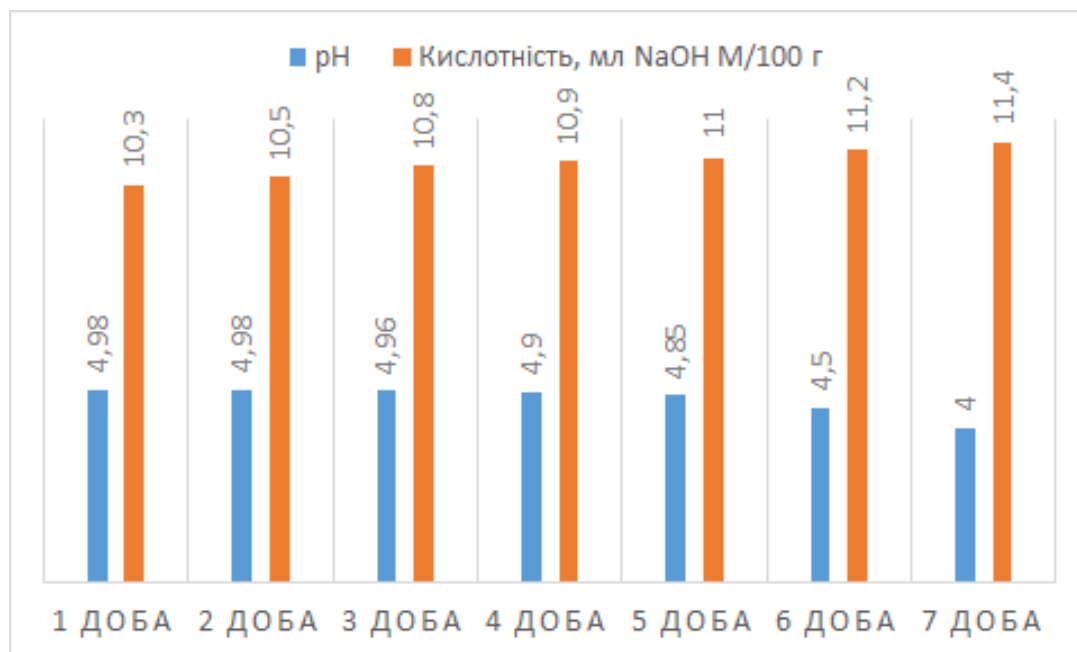


Рис.5. Зміна кислотності сиру в процесі зберігання

В процесі зберігання рН сиру знижувалася з 4,98 до 4, що свідчило про накопичення молочної кислоти в процесі ферментації. Дріжджі є основними виробниками молочної кислоти, яка може знизити рН навколишнього середовища та надати антибактеріальний ефект. Антибактеріальний ефект зниження рН може бути вирішальним для пригнічення проліферації харчових патогенів.

Завдяки метаболічним процесам, які відбуваються під час виготовлення та дозрівання сиру, молочна кислота найбільше міститься в подібних сирах і за часом дозрівання.

Також, зростала титрована кислотність від 10,3 до 11,4.

3.3. Результати мікробіологічної оцінки м'якого сиру

Мікробіологічний аналіз проведено після 7 днів зберігання сиру в побутовому холодильнику. Результати мікробіологічного аналізу м'якого сиру представлено в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3 – Мікробіологічні показники м'якого сиру

Найменування показників	Нормовані значення	Сир ферментований у виноградному листі
Кількість молочнокислих бактерій, КУО в 1 см ³ , не менше ніж	10 ⁶	10 ⁸
Бактерії групи кишкових паличок (коліформи) в 0,1 см ³	Не дозволено	-
Патогенні мікроорганізми, зокрема <i>Salmonella</i> , в 25 см ³ продукту	Не дозволено	-
Дріжджі, КУО в 1 см ³ , не більше ніж	100 ¹	100 ¹
Плісневі гриби, КУО в 1 см ³ , не більше ніж	50 ¹	20 ¹

Мікробіологічний аналіз показав, що ферментація сиру у виноградних листах призводить до накопичення молочнокислих бактерій до рівня 10⁸ КУО в 1 см³.

Разом з тим, винні дріжджі пригнічують ріст плісневих грибів, їх вміст не перевищує 20¹ КУО в 1 см³.

Патогенних мікроорганізмів та бактерій кишкової палички не виявлено.

3.4. Технологія виготовлення м'якого сиру ферментованого у виноградному листі

Технологічна схема виготовлення м'якого сиру ферментованого у виноградному листі представлена на рисунку 6.

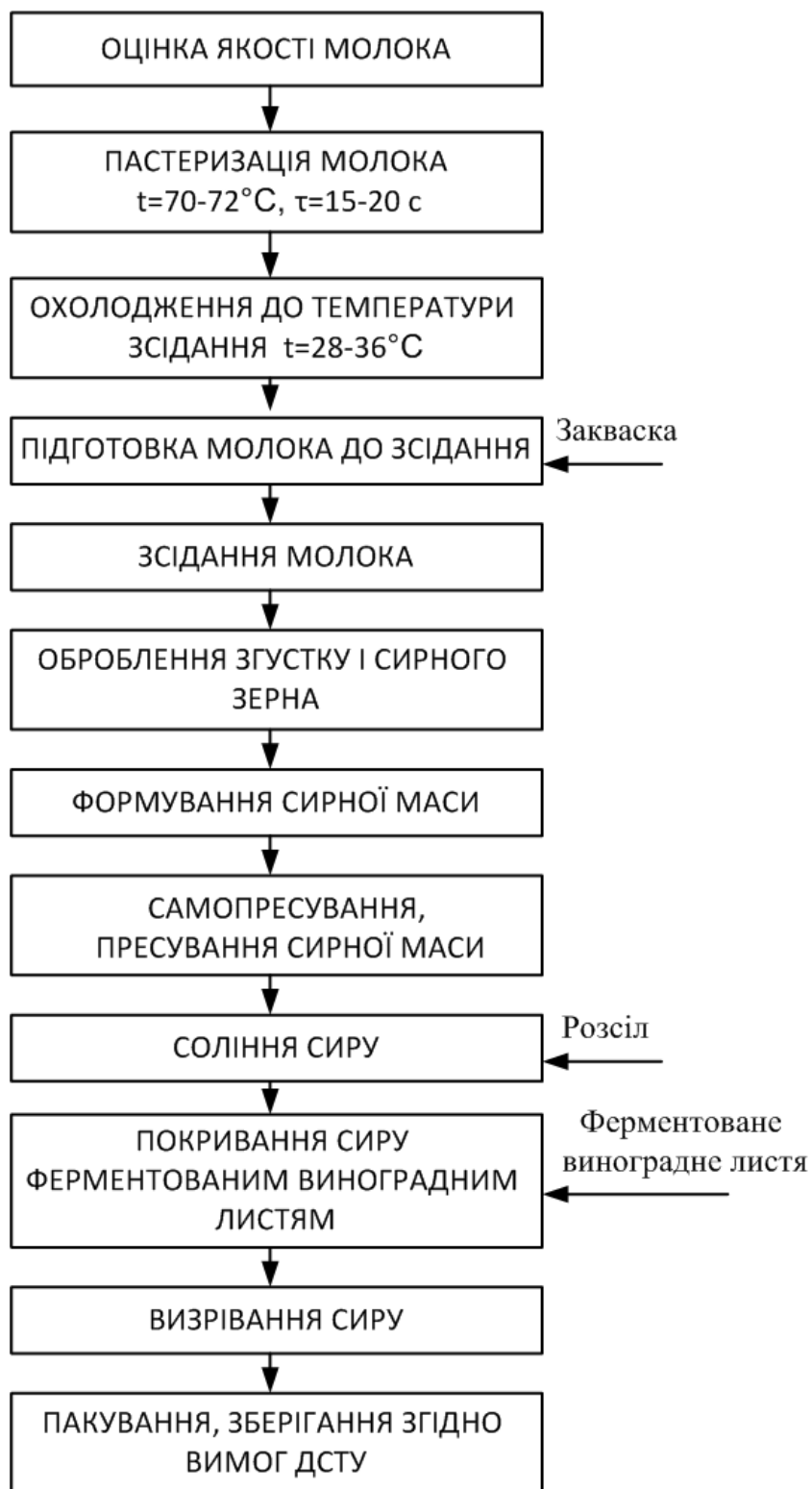


Рис.6. Технологічна схема виробництва сиру у виноградному листі

Пастеризоване незбиране молоко охолоджується до температури заквашування (28-36°C). Після внесення закваски молоко зсідається за рахунок ферментації. Отриманий згусток обробляється, ріжеться на кубики.

Утворена сирна маса поміщується у перфоровані форми та відбувається формування та самопресування голівки.

Спресовані голівки змішуються з соляним розсолом, протягом доби відбувається процес їх соління.

Просолені голівки огортаються у ферментоване виноградне листя та пергамент і поміщуються у холодильну камеру для визрівання.

Тривалість визрівання – 7 діб, після чого сиру надаються певні смако-ароматичні характеристики.

Після визрівання сир готовий до споживання. Його упаковують. Маркують на направляють на реалізацію.

Висновки до розділу 3

1. Ферментоване виноградне листя містить винні дріжджі, які надають сиру певних смако-ароматичних властивостей під час визрівання. Отриманий сир має унікальний фруктовий аромат, який, ймовірно, сформований внаслідок дії винних дріжджів. Інтенсивність аромату під час жування та після ковтання зростає. Сир мав м'яку кремову, майже рідкою, текстуру, характерну для сирів брі та камамбер. Колір тіста був світло-жовтим, з кремовим відтінком.
2. Порівняно з адигейським сиром у м'якому сирі, ферментованому у виноградному листі, спостерігався підвищений вміст білків (20%) та жирів (25%), що призвело до зростання енергетичної цінності сиру до 257 ккал.
3. У ферментованому сирі збільшувався вміст вологи до 82%.
4. В процесі зберігання рН сиру знижувалася з 4,98 до 4, що свідчило про накопичення молочної кислоти в процесі ферментації. Дріжджі є

основними виробниками молочної кислоти, яка може знизити рН навколишнього середовища та надати антибактеріальний ефект. Антибактеріальний ефект зниження рН може бути вирішальним для пригнічення проліферації харчових патогенів.

5. Мікробіологічний аналіз показав, що ферментація сиру у виноградних листах призводить до накопичення молочнокислих бактерій до рівня 10^8 КУО в 1 см³.
6. Виявлено, що винні дріжджі пригнічують ріст плісневих грибів, їх вміст не перевищує 20^1 КУО в 1 см³.

РОЗДІЛ IV. АНАЛІЗ ТЕХНОЛОГІЇ ТА ВИЗНАЧЕННЯ НЕБЕЗПЕЧНИХ ЧИННИКІВ ВИРОБНИЦТВА ХАРЧОВОЇ ПРОДУКЦІЇ

Виробництво м'якого сиру включає кілька етапів, які можуть призвести до мікробного зараження, що може становити серйозний ризик для здоров'я споживачів. Використання аналізу ризиків і критичних контрольних точок (НАССР) стало стандартною практикою в харчовій промисловості для забезпечення безпеки сиру моцарела. Це передбачає виявлення потенційних небезпек і встановлення критичних контрольних точок для їх запобігання або усунення.

Комісія Codex Alimentarius стандартизувала систему НАССР [51] як профілактичний підхід, який ідентифікує, підтримує, оцінює, контролює та контролює кожен пункт виробництва, яка має вирішальне значення для безпеки харчових продуктів [52].

НАССР керується сімома принципами, включаючи проведення аналізу небезпек, ідентифікацію критичних точок процесу, встановлення критичних меж, вимоги моніторингу ССР, перевірку коригувальних дій, процедури ведення записів і системну документацію. Термін «небезпека» в системі НАССР відноситься до речовин або умов, пов'язаних з їжею, які впливають на здоров'я споживача.

За даними Suherman et al. [53] всі фізичні, хімічні та біологічні небезпеки в продукті можуть походити від сирого молока, іншої сировини, забруднювачів навколишнього середовища, виробничого обладнання та персоналу. Таким чином, впровадження стандартів безпеки харчових продуктів, таких як НАССР, було ефективним і раціональним засобом забезпечення безпеки харчових продуктів і усунення ризиків для здоров'я населення.

Його цінують у всьому світі як систематичну та захисну тактику для боротьби з біологічними, хімічними та фізичними небезпеками шляхом стримування та передбачення замість тестування та перевірки кінцевого продукту [54].

Критична контрольна точка важлива для запобігання, усунення або зниження небезпеки безпеки харчових продуктів до прийняттого рівня. ККТ необхідно визначати на основі потенційних небезпек, які, якщо їх не контролювати, можуть спричинити хворобу або травму.

FDA заявило, що повна, точна та своєчасна ідентифікація ККТ має важливе значення для контролю небезпек харчових продуктів. Згідно з повідомленнями в літературі, дослідник використовував дерево рішень щодо використання для ідентифікації ККТ у виробництві сиру.

Найбільш значущими точками контролю, визначеними у виробництві сиру моцарелла, є прийом молока, температура пастеризації, додавання солі та сичужного ферменту, коагуляція та нарізка сиру. У той час як більшість країн розробляє правила для забезпечення безпечності харчових продуктів за допомогою превентивного підходу, наприклад принципи HACCP, Кодекс та стандарти ISO, виконання вимог залежить від багатьох факторів. Ідентифікація небезпеки та ККТ є найважливішими кроками, які потребують ретельного аналізу та знань у впровадженні HACCP.

HACCP планує використовувати аналіз ризиків для забезпечення безпеки продукту під час і після обробки, щоб покращити термін придатності та зробити продукти безпечними для споживання.

Дерево рішень ККТ відіграє важливу роль у визначенні ККТ на кожному етапі обробки сиру. Після визначення ККТ здійснюється моніторинг їх критичних меж і визначається їх частота, а також можуть бути вжиті коригувальні дії, якщо будь-які критичні межі не досягнуті.

Перевірки контролю температури, моніторинг рН, мікробні випробування кінцевого продукту та калібрування обладнання необхідні, коли ККТ виходить з ладу через неправильне функціонування обладнання.

Контрольні критичні точки у виробництві сиру, ферментованого у виноградних листках, представлено на рис.7.

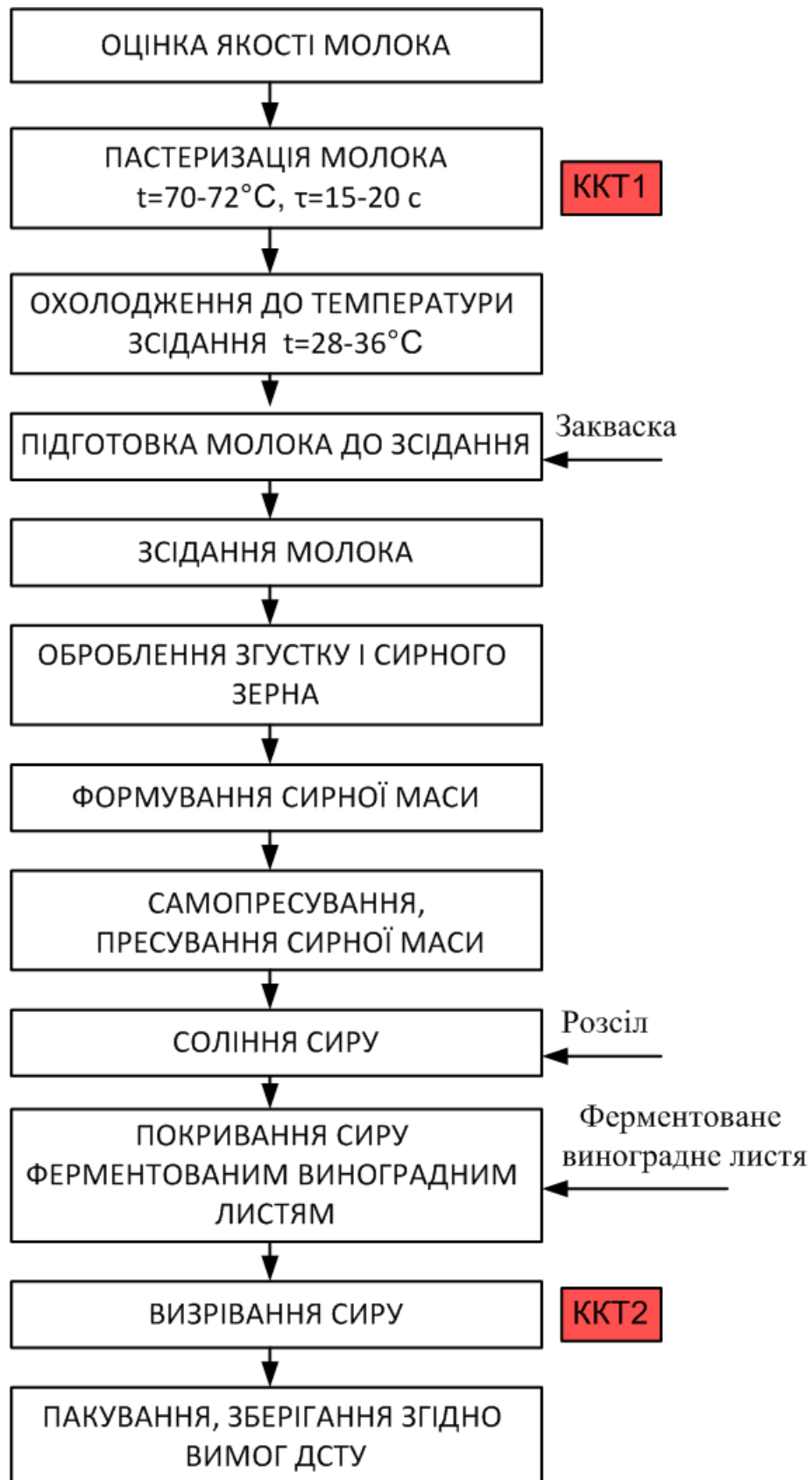


Рис.7. Схема виробничого контролю при виготовленні сиру

Перша контрольна критична точка у виробництві сиру – це пастеризація, яка повинна забезпечувати мікробіологічну чистоту молока.

Друга – визрівання сиру у виноградному листі. Оскільки на поверхні листя накопичуються винні «дикі» дріжджі, важливо, щоб не відбувалося спонтанного розвитку небажаної мікрофлори, зокрема плісняви та бактерій групи кишкової палички.

Крім того, ефективна мікробна інактивація є важливою при переробці молока для усунення шкідливих мікроорганізмів і підтримки безпеки продукту. Традиційні термічні методи, такі як пастеризація, широко використовуються для мікробного контролю в молочній промисловості. Проте зростає інтерес до методів нетермічної обробки через їх потенціал для досягнення мікробної інактивації при мінімізації впливу на якість молока. Імпульсні електричні поля, обробка високого тиску і технології нетермічної плазми є одними з відомих методів нетермічної обробки, які досліджуються для мікробного контролю в молоці.

Ці методи використовують електричні розряди, високий тиск або плазму для інактивації мікроорганізмів, зберігаючи поживні та сенсорні якості молока. Однак проблеми оптимізації цих технологій для великомасштабного промислового застосування залишаються. Таким чином, впровадження НАССР та використання методів нетермічної обробки мають значний вплив на виробництво продуктів відмінної якості, які є корисними та придатними для споживання людиною, запобігаючи забрудненню та використовуючи мікробну інактивацію. Цей розділ має на меті розглянути нещодавні висновки щодо ССР на заводах з переробки сиру моцарелла та мікробної активації за допомогою нетермічної обробки.

Успішному впровадженню плану НАССР сприяє прихильність вищого керівництва. Наступною дією є встановлення стратегії, яка визначає особу, яка контролює розробку, впровадження та підтримку системи НАССР. Координатор НАССР та команда спочатку вибираються та навчаються за потреби. Потім команда відповідає за створення початкового плану та координацію його

виконання. Плани НАССР для конкретних продуктів можуть бути розроблені групами продуктів. Після завершення плану НАССР розробляються процедури оператора, форми та процедури моніторингу та коригувальних дій. Впровадження системи НАССР передбачає продовження використання моніторингу, ведення записів, процедур коригувальних дій та інших заходів, викладених у плані НАССР [55].

Система НАССР повинна враховувати сировину, інгредієнти, практику виробництва харчових продуктів, роль виробничих процесів у контролі небезпек, ймовірне кінцеве використання продукту, категорії споживачів, які викликають занепокоєння, та епідеміологічні дані щодо харчових продуктів. безпека під час ідентифікації, оцінки та подальших етапів експлуатації.

Під час виробництва м'якого сиру правильне розуміння потенційних небезпек і стратегій запобігання, етапів обробки та визначення основних інгредієнтів має значний вплив на розробку та впровадження НАССР.

Молоко, сичужний фермент, закваска та сіль є основними інгредієнтами для обробки сиру. Етапи обробки включають приймання молока, пастеризацію та охолодження, додавання сичужного ферменту та коагуляцію, різання та зливання сироватки, варіння та розтягування, сухе засолювання, формування, розсол, пакування та зберігання. Тоді ідентифікація ККТ буде наступним кроком для впровадження плану НАССР.

Таблиця 4.1 – Небезпеки у виробництві м'якого сиру

Етапи обробки	Небезпеки	Профілактичний захід
Прийом молока	Мікробіологічні: Комахи, шкідники, залишки антибіотиків, мікробний афлатоксин Хімічна: сечовина, мийні засоби, борна кислота, сульфат амонію, цукор, перекис водню, меламін, саліцилова кислота, бензойна кислота, NaCl, залишки антибіотиків і комах	належне налаштування обладнання, продезінфікуйте все транспортне обладнання

Етапи обробки	Небезпеки	Профілактичний захід
	Фізична: Каміння, лушпиння, волосся, скло, метал, осколки пластику, стружка	
Пастеризація	Мікробіологічні: <i>Бацилас</i> spp., <i>клостридії</i> spp. і <i>Coxiella burnetii</i> , спори <i>татермодурний</i> бактерії Хімічні: Миючий дезінфікуючий засіб, гіпохлорит натрію, перекис водню, йод, ізотіазолінони, озон, надоцтова кислота, фенольні та поверхнево-активні речовини. Фізичні: Каміння, лушпиння, волосся, скло, метал, уламки пластику, стружка	72°C, 15 с, належне налаштування пастеризатора, продезінфікуйте все обладнання
Сичужний фермент	Мікробіологічні: <i>Бацилас</i> spp., <i>клостридії</i> spp., <i>Coxiella burnetii</i> , спори <i>татермодурний</i> бактерії Хімічні: Миючий дезінфікуючий засіб, гіпохлорит натрію, перекис водню, йод, ізотіазолінони, озон, надоцтова кислота, фенольні та поверхнево-активні речовини. Фізичні: Каміння, лушпиння, гайка, болт	продезінфікуйте ємність, яка використовується для розведення сичужного ферменту, належну особисту гігієну та поводження
Коагуляція	Мікробіологічні: <i>Бацилас</i> spp., <i>Clostridium</i> spp., <i>Coxiella burnetii</i> , спори <i>татермодурний</i> бактерії Хімічні: Дезінфікуючий засіб, гіпохлорит натрію, перекис водню. Фізичні: Каміння, лушпиння, гайка, болт	40°C, 60 хв, належна особиста гігієна та поводження
Нарізка	Мікробіологічні: <i>Бацилас</i> spp., <i>Clostridium</i> spp., <i>Coxiella burnetii</i> , спори <i>татермодурний</i> бактерії Хімічні: Дезінфікуючий засіб, гіпохлорит натрію та перекис водню Фізичні: Каміння, лушпиння, гайка, болт	правильний розмір ножа для оптимального розміру сирної маси, дезінфекція ріжучих інструментів, рук і рук різача, належна особиста гігієна та поводження

Етапи обробки	Небезпеки	Профілактичний захід
Засолювання	Мікробіологічні: <i>Bacillus</i> spp., <i>Clostridium</i> spp., <i>Coxiella burnetii</i> , спори термодурних бактерій Хімічні: Дезінфікуючий засіб для чищення, Фізичні: Корозійне обладнання	2,5–4,5% солі, оптимальний вміст води 60–65%, продезінфікуйте ємність для солі та інструменти для перемішування, постачайте якісну воду, належну особисту гігієну та поводження
Зберігання та розподіл	Мікробіологічні: <i>Pseudomonas</i> , Хімічні: Миючий дезінфікуючий засіб, гіпохлорит натрію, перекис водню, йод, ізотіазолінони, озон, надоктова кислота, фенольні та поверхнево-активні речовини. Фізичні: Удари при падінні, вібрація, невідповідна температура, вологість, скло, кістки або залишки комах, металеві фрагменти та пластик	Температура зберігання $\leq 45^{\circ}\text{F}$. Розповсюджується в охолоджену стані ($\leq 45^{\circ}\text{F}$), у належних умовах будівлі, належних умовах зберігання, боротьбі зі шкідниками

Ідентифікація потенційних небезпек та їх джерел відіграє важливу роль в описі повного процесу оцінки ризику, який включає три важливі етапи:

- 1) ідентифікація небезпек і факторів ризику, які можуть завдати шкоди (ідентифікація небезпек),
- 2) аналіз та оцінити ризик, пов'язаний із цією небезпекою (аналіз ризику та оцінка ризику);
- 3), визначити відповідні способи усунення небезпеки або контролювати ризик, коли небезпеку неможливо усунути (контроль ризику) [56].

Таблиця 4.2 – Точки контролю у виробництві сиру

Точки контролю	Небезпеки	Профілактичний захід	Критичні межі	Процедура моніторингу	Частота моніторингу	Коригувальні дії
Прийом молока	Мікробне хімічне та фізичне забруднення, напр	Отримання натурального сирого молока при $\leq 4 - 6^{\circ}\text{C}$, освітлення молока, попередня термічна обробка, сепарування.	Не можна використовувати некваліфікований матеріал	Застосовувати гарантії якості поставок	Кожна подача	Відмова від сировини з дефектами Очищення зони прийому та обладнання Навчання та охолодження оператора <4
	Загальна кількість пластинок/г	Належне транспортне обладнання Продезінфікуйте обладнання Правильний персонал	Макс. 2×10^4 КУО/г	Перевірка особистої гігієни та обладнання	Кожен раз під час збору та прийому	Очищення обладнання для збирання та зберігання молока, пастеризація
		гігієна та поведіння				Навчання та охолодження операторів <4
	Clostridium botulinum	Уникайте перехресного забруднення та контакту з ґрунтом	Ніль за грам	Перевірка особистої гігієни, гігієни навколишнього середовища та обладнання	Щоразу під час збору, прийому та в кінці виробництва	Перевірка особистої гігієни, гігієни навколишнього середовища та обладнання
	Перевірка залишків мікотоксинів (афлатоксину M1).	Перевірка кормового персоналу та іншого джерела зараження	0,5 мкг/кг	Регулярне виявлення	Кожен пункт постачання та збору	
	Антибіотики (загальні антибіотики)	Перевірка постачання та належного вилучення	10,0 ppb	Регулярне виявлення	Кожен пункт постачання та збору	Відкинути

Точки контролю	Небезпеки	Профілактичний захід	Критичні межі	Процедура моніторингу	Частота моніторингу	Коригувальні дії
Пастеризація	Вживаність збудників таких	Перевірка пастеризатора: перевірте нагрівальну плиту,	Температура встановлена на 72°C, 15 с,	Перевірте термометр і час,	Кожна партія	Відрегулюйте температуру і час за допомогою установки
	<i>Кишкова паличка, Золотистий стафілокок Bacillus cereus</i> т.д.	Перевірте регулятор температури та перевірте відведення потоку	патогенних бактерій має бути нуль на грам, тест на фосфатазу негативний	Перевірте, чи обладнання працює належним чином. Керівник і ведення записів	Регулярно Кожна партія	Колодязь обладнання Викличте інженера для ремонту
Закваска та додавання сичужного ферменту	Мікробіологічне забруднення	Адекватна додаткова ставка	Сичужний фермент: набір мішалок концентрату 100 мл/100 кг	Перевірте додаткову норму сичужного ферменту та рН	Кожна партія	Застосовуючи додаткові тести на рН, відрегулюйте швидкість перемішування та температуру зберігання <-40°C
	Фізичне забруднення	Агітуйте правильно	На середній	Перевірити норму обліку мішалки	Кожна партія	Навчання оператора
Коагуляція	Мікробіологічне, фізичне та хімічне забруднення	Правильна установка та запис часу	Температуру встановлюють 40–45°C. Час встановлюють 30–60 хв	Перевірте температуру/ час та інструменти для перемішування	Кожна партія	Відмовитися від продукту
	Вийміть інструменти для перемішування з бака	Засоби перешкоджають згортанню	Облік	Кожна партія	Навчання оператора	
Нарізка	Мікробіологічне забруднення	Правильне налаштування часу та температури		Перевірте запис температури/ часу	Кожна партія	Відрегулюйте нагрівач, щоб змінити температуру

Точки контролю	Небезпеки	Профілактичний захід	Критичні межі	Процедура моніторингу	Частота моніторингу	Коригувальні дії
						Навчання оператора
Сухе засолювання	Мікробіологічне забруднення, наприклад сальмонела	Правильний рівень солі Правильне змішування під час засолювання Без солі будь-яких забруднень	Сіль% = 5,0% Продукт не повинен містити сальмонели та шигел	Записи та тестування	Кожна партія	Не можна допускати прогресування неправильно засоленого сиру
Формування	Мікробіологічне забруднення	Правильне налаштування температури	Температура у встановити 32°C	Перевірка термометра та ведення записів	Кожна партія	Відрегулюйте нагрівач, щоб змінити температуру
Упаковка	Мікробіологічні, фізичні та хімічні	екрани, фільтри. Використовуйте певні розміри для продуктів Низький рівень ударів, менше ударів з іншими пакетами		Візуальний огляд упаковок і пакувального матеріалу	Кожні 3 години	Побудуйте належну структурну каркасну шафу для розміщення піддонів на складі
Зберігання та розповсюдження		Підтримувати температуру охолодження контролювати вологість, охолодження у транспортному засобі	Температура 4 °C	Діловодство, документація	Перевіряйте кожні 60 хв	Уникайте коливань під час холодного зберігання

Ідентифікація небезпеки корисна для виявлення потенційних мікробіологічних, хімічних і фізичних небезпек, які можуть виникнути під час кожного етапу обробки сиру моцарела [57]. Мікробіологічні небезпеки - це патогени або шкідливі бактерії, введені під час виробництва, *E.coli*, і *Золотистий стафілокок*, є шкідливими бактеріями в сирому молоці та *Сальмонела* може

забруднити кінцевий продукт. Ці мікробіологічні небезпеки можуть походити з іншого джерела [56].

Мікробна потенційна небезпека включає патогенні бактерії, такі як *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Cl. perfringens*, *Cl. botulinum*, *B. cereus*, *iL. Monocytogenes* з інгредієнтів. Крім того, мікотоксини та бактеріальні токсини, такі як стафілококовий ентеротоксин містяться в певному сирому молоці та інгредієнтах. Додаткові небезпеки, пов'язані з ароматизацією харчових продуктів, таких як спеції, трави, шинка, фрукти, гриби тощо, патогени, які можуть передаватися від персоналу, повторне зараження цвілью та патогенні бактерії з середовища обробки та пакування також вважаються біологічними небезпеками [58].

Хімічні забруднення включають рослинні токсини та хімічні речовини, додані під час обробки, а також інші хімічні речовини, що походять із сировини. **Хімічні небезпеки** у виробництві сиру включають залишки пестицидів, забруднювачі навколишнього середовища в сировині та інгредієнтах (наприклад, продукти з високим вмістом жиру, діоксинів і діоксиноподібних ПХБ, важкі метали), забруднювачі від переробної діяльності (охолоджувачі, мастила, дезінфікуючі засоби), добавки, що переносять (із зазначеними числовими ADI) із сировини та інгредієнтів, а також забруднювачі з матеріалів, що контактують з харчовими продуктами, включаючи покриття, віск і м'які пластики, такі як плівки для дозрівання.

Фізичне забруднення — це сторонній матеріал, який може виникнути через неправильне особисте поводження або погані умови навколишнього середовища. Небезпека походить від сировини та етапів обробки. Фізичні небезпеки включають скло, кістки або уламки комах, металеві фрагменти, твердий пластик тощо; скло може виходити з незакріплених вікон, ламп, лампочок, неонових трубок, термометрів, лабораторного скла, шпигунських отворів на баках, трубок для знищення комах або іншого скляного обладнання; залишки комах можуть походити від сировини, інгредієнтів і пакувального матеріалу; метал може походити від неправильно побудованих або

обслуговуваних машин або обладнання; камені можуть виходити з пошкодженої підлоги або стін; деревина з піддонів або дерев'яного обладнання; а пластик від відер, ящиків і щіток є одними з потенційних фізичних небезпек у виробництві сиру.

Висновки до розділу 4

Встановлено контрольні критичні точки у виробництві м'якого сиру, ферментованого у виноградному листі.

Проаналізовано види небезпек та точки контролю в процесі виробництва.

Запропоновано заходи по впровадженню системи НАССР у виробництві м'якого сиру, ферментованого у виноградному листі.

РОЗДІЛ V. РОЗРАХУНОК ОЧІКУВАНОВОГО ЕКОНОМІЧНОГО ЕФЕКТУ ВІД ВПРОВАДЖЕННЯ НОВОГО ПРОДУКТУ

Таблиця 5.1 - Витрати на сировину та основних матеріалів при виробництві м'якого сиру

Сировина	М'який сир		
	норма на 20 кг	ціна, грн/кг	вартість, грн
Молоко, л	200	15	300
Закваска, кг	0,075	242	18,2
Разом			318,2

У таблиці 5.2 наведено розрахунок витрат на допоміжні та таропакувальні матеріали при виробництві м'якого сиру.

Таблиця 5.2 - Витрати на допоміжні та таропакувальні матеріали

Сировина	М'який сир		
	норма на 20 кг	ціна, грн/шт	вартість, грн
Пакети поліетиленові для вакуумної упаковки, шт	40	13,0	520
Етикетки	40	1,0	40
Разом:			560

У таблиці 5.3 представлені енерговитрати на технологічні цілі.

Таблиця 5.3 - Енерговитрати на технологічні цілі

Сировина	М'який сир		
	норма на 100 кг	ціна, м ³	вартість, грн
Вода, м ³	0,4	33	13,2
Електроенергія, кВт/год	2	6	12
Разом:			25,2

Витрати по статті "Основна заробітна плата" Річний ефективний фонд робочого часу на 1 робітника представлені в таблиці 5.4.

Таблиця 5.4 - Основна заробітна плата

Сировина	М'який сир		
	норма виробництва	годинна тарифна ставка, грн/год	основна заробітна плата, грн
Апаратник	1000	100	10 000
Разом:			10 000

Враховуючи, що за 1 день планується виробляти 20 кг сиру, витрати на оплату праці за 1 день становлять 416 грн.

Загальні витрати на виробництво представлено в таблиці 5.5.

Таблиця 5.5 - Витрати на виробництво та реалізацію продукції

Сировина	М'який сир
Сировина і матеріали, грн.	318,2
Допоміжні матеріали, грн.	560
Енерговитрати, грн.	25,2
Фонд заробітної плати, грн.	416
Відрахування на соціальні заходи, грн.	125
Інші витрати, грн.	50
Витрати на реалізацію, грн.	50
Повна собівартість, грн.	1244,4
Собівартість 1 кг сиру	62,22
Відпускна ціна 1 кг сиру	250

Підбиваючи підсумок щодо проведених розрахунків, слід проаналізувати економічну ефективність проекту з удосконалення рецептури за основними показниками:

1. Валовий прибуток, грн.:

$$\Pi_1 = 3000 - 1244,4 = 1755,6$$

2. Рентабельність виробництва м'якого сиру, %:

$$P_1 = 1755,6 / 3000 * 100 = 18 \%$$

3. Витрати на 1 грн. вартості м'якого сиру, грн.:

$$B_{T1} = 1244,4 / 3000 = 0,41$$

4. Виробництво м'якого сиру на одного працівника, тис. грн.:

$$B_{П1} = 3000 / 1 = 3000$$

5. Фондовіддача, грн.:

$$\Phi_{B1} = 3000 / 1244,4 = 2,4$$

Висновки до розділу 5

Розрахунок техніко-економічних показників із запровадження м'якого сиру, показав, що підприємство матиме можливість отримати додатковий прибуток за рахунок використання нетрадиційної сировини. Середньо допустима вартість м'якого сиру - 250 грн за кг.

ВИСНОВКИ

1. З технологічної точки зору, ентеробактерії, здатні ферментувати лактозу (коліформи), можуть здійснювати небажане бродіння, якщо присутні у високій кількості в молоці, спричиняючи дуже поширений дефект у технології сиру. Пригнічувати їх розвиток здатні винні дріжджі.
2. Ферментоване виноградне листя містить винні дріжджі, які надають сиру певних смако-ароматичних властивостей під час визрівання. Отриманий сир має унікальний фруктовий аромат, який, ймовірно, сформований внаслідок дії винних дріжджів. Інтенсивність аромату під час жування та після ковтання зростає. Сир мав м'яку кремову, майже рідкою, текстуру, характерну для сирів брі та камамбер. Колір тіста був світло-жовтим, з кремовим відтінком.
3. Порівняно з адигейським сиром у м'якому сирі, ферментованому у виноградному листі, спостерігався підвищений вміст білків (20%) та жирів (25%), що призвело до зростання енергетичної цінності сиру до 257 ккал.
4. У ферментованому сирі збільшувався вміст води до 82%.
5. В процесі зберігання рН сиру знижувалася з 4,98 до 4, що свідчило про накопичення молочної кислоти в процесі ферментації. Дріжджі є основними виробниками молочної кислоти, яка може знизити рН навколишнього середовища та надати антибактеріальний ефект. Антибактеріальний ефект зниження рН може бути вирішальним для пригнічення проліферації харчових патогенів.
6. Мікробіологічний аналіз показав, що ферментація сиру у виноградних листах призводить до накопичення молочнокислих бактерій до рівня 10^8 КУО в 1 см³.
7. Виявлено, що винні дріжджі пригнічують ріст плісневих грибів, їх вміст не перевищує 20^1 КУО в 1 см³.

8. Встановлено контрольні критичні точки у виробництві м'якого сиру, ферментованого у виноградному листі.
9. Проаналізовано види небезпек та точки контролю в процесі виробництва.
10. Запропоновано заходи по впровадженню системи НАССР у виробництві м'якого сиру, ферментованого у виноградному листі.
11. Середньо допустима вартість м'якого сиру - 250 грн за кг.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Fox PF, Guinee TP, Cogan TM, et al. *Fundamentals of Cheese Science*. 2 Eds. New York: Springer; 2016. Principal families of cheese; pp. 27–69.
2. Bintsis T, Athanasoulas A. Dairy starter cultures. In: Papademas, editor. *Dairy Microbiology-A Practical Approach*. 1 Eds. Boca Raton: CRC Press; 2015. pp. 114–154.
3. Licitra G. World wide traditional cheeses: Banned for business? *Dairy Sci Technol*. 2010;90:357–374.
4. Kindstedt. The history of cheese. In: Papademas P, Bintsis T, editors. *Global Cheesemaking Technology: Cheese Quality and Characteristics*. 1 Eds. UK: Wiley & Sons; 2018. pp. 3–19.
5. Montel MC, Buchin S, Mallet A, et al. Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *Int J Food Microbiol*. 2014;177:136–154.
6. Grattepanche F, Miescher-Schwenninger S, Meile L, et al. Recent developments in cheese cultures with protective and probiotic functionalities. *Dairy Sci Technol*. 2008;88:421–444.
7. Irlinger F, Layec S, Helinck S, et al. Cheese rind microbial communities: diversity, composition and origin. *FEMS Microbiol Let*. 2015;362:1–11.
8. Goerges S, Mounier J, Rea MC, et al. Commercial ripening starter microorganisms inoculated into cheese milk do not successfully establish themselves in the resident microbial ripening consortia of a South German red smear cheese. *Appl Environ Microbiol*. 2008;74:2210–2217.
9. Bokulich NA, Mills DA. Facility-specific ‘house’ microbiome drives microbial landscapes of artisan cheesemaking plants. *Appl Environ Microbiol*. 2013;79:5214–5223.
10. Fröhlich-Wyder MT, Arias-Roth E, Jakob E. Cheese yeasts. *Yeasts*. 2019;36:129–141.

11. Cogan TM, Goerges S, Gelsomino R, et al. Biodiversity of the surface microbial consortia from limburg, Reblochon, Livarot, Tilsit, and Gubbeen Cheeses. *Microbiol Spectrum*. 2014;2:CM-0010-2012.
12. Lavoie K, Touchette M, St-Gelais D, et al. Characterization of the fungal microflora in raw milk and specialty cheeses of the province of Quebec. *Dairy Sci Technol*. 2012;92:455-68.
13. Cantor MD, van den Tempel T, Kronborg Hansen T, et al. Blue cheese. In: McSweeney PLH, Fox P, Cotter PD, et al., editors. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology Major*. 4 Eds. London: Elsevier Academic Press; 2017. pp. 929-954.
14. Montel MC, Buchin S, Mallet A, Delbes-Paus C, Vuitton DA, Desmasure N, Berthier F. Traditional cheeses: rich and diverse microbiota with associated benefits. *Int J Food Microbiol*. 2014 May 2;177:136-54. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.019.
15. Centeno JA, Carballo J. Current Advances in Cheese Microbiology. *Foods*. 2023; 12(13):2577. <https://doi.org/10.3390/foods12132577>.
16. Centeno, J.A.; Carballo, J. Starter and adjunct microbial cultures used in the manufacture of fermented and/or cured or ripened meat and dairy products. In *Beneficial Microbes in Fermented and Functional Foods*; Rai, V.R., Bai, J.A., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2015; pp. 35-53. ISBN 13:978-1-4822-0662-3.
17. Garabal, J.I. Biodiversity and the survival of autochthonous fermented products. *Int. Microbiol*. 2007, 10, 1-3.
18. Garabal, J.I.; Rodríguez-Alonso, P.; Centeno, J.A. Characterization of lactic acid bacteria isolated from raw cows' milk cheeses currently produced in Galicia (NW Spain). *LWT-Food Sci. Technol*. 2008, 41, 1452-1458.
19. Rupsienė R. (2003) Influence of leaven on dairy tanning and cheese quality. *Food Chemistry and Technology, Conference Proceedings, Kaunas, Technologija*, p. 83-84.
20. Gutiérrez-Méndez N, Balderrama-Carmona A, García-Sandoval SE, Ramírez-Vigil P, Leal-Ramos MY, García-Triana A. Proteolysis and Rheological Properties of Cream Cheese Made with a Plant-Derived Coagulant from *Solanum elaeagnifolium*. *Foods*. 2019 Jan 30;8(2):44. doi: 10.3390/foods8020044.

21. Brighenti M., Govindasamy-Lucey S., Lim K., Nelson K., Lucey J.A. Characterization of the rheological, textural, and sensory properties of samples of commercial US cream cheese with different fat contents. *J. Dairy Sci.* 2008;91:4501–4517. doi: 10.3168/jds.2008-1322.
22. Coutouly A., Riaublanc A., Axelos M., Gaucher I. Effect of heat treatment, final pH of acidification, and homogenization pressure on the texture properties of cream cheese. *Dairy Sci. Technol.* 2013;94:125–144. doi: 10.1007/s13594-013-0148-z.
23. Schulz-Collins D., Senge B. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Elsevier; New York, NY, USA: 2004. Acid-and acid/rennet-curd cheeses part A: Quark, cream cheese and related varieties; pp. 301–328.
24. Lucey J.A., Singh H. Formation and physical properties of acid milk gels: A review. *Food Res. Int.* 1997;30:529–542. doi: 10.1016/S0963-9969(98)00015-5.
25. Cosentino C., Paolino R., Freschi P., Calluso A.M. Short communication: Jenny milk as an inhibitor of late blowing in cheese: A preliminary report. *J. Dairy Sci.* 2013;96:3547–3550. doi: 10.3168/jds.2012-6225.
26. Lucey J., Singh H. Acid coagulation of milk. In: Fox P.F., McSweeney P.L.H., editors. *Advanced Dairy Chemistry—1 Proteins*. Springer; New York, NY, USA: 2003. pp. 1001–1025.
27. Salvatore E., Pirisi A., Corredig M. Gelation properties of casein micelles during combined renneting and bacterial fermentation: Effect of concentration by ultrafiltration. *Int. Dairy J.* 2011;21:848–856. doi: 10.1016/j.idairyj.2011.05.006.
28. Jacob M., Jaros D., Rohm H. Recent advances in milk clotting enzymes. *Int. J. Dairy Technol.* 2011;64:14–33. doi: 10.1111/j.1471-0307.2010.00633.x.
29. Shah M.A., Mir S.A., Paray M.A. Plant proteases as milk clotting enzymes in cheese-making: A review. *Dairy Sci. Technol.* 2014;94:5–16. doi: 10.1007/s13594-013-0144-3.
30. Ahmed I.A.M., Morishina I., Babiker E.E., Mori N., Morishima I., Babiker E.E., Mori N. Characterisation of partially purified milk clotting enzyme from *Solanum dubium* Fresen seeds. *Food Chem.* 2009;116:395–400. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.11.072.

31. Chávez-Garay D.R., Gutiérrez-Méndez N., Valenzuela-Soto M.E., García-Triana A. Partial characterization of a plant coagulant obtained from the berries of *Solanum elaeagnifolium*. *CyTA J. Food.* 2016;14:200–205. doi: 10.1080/19476337.2015.1080763.
32. Law, B.A. Controlled and accelerated cheese ripening; the research base for new technologies. *Int. Dairy J.* 2001, 11, 383–398.
33. Bertuzzi, A.S.; Walsh, A.M.; Sheehan, J.J.; Cotter, P.D.; Crispie, F.; McSweeney, P.L.H.; Kilcawley, K.N.; Rea, M.C. Omics-based insights into flavor development and microbial succession within surface-ripened cheese. *mSystems* 2018, 3, e00211-17.
34. Anastasiou, R.; Kazou, M.; Georgalaki, M.; Aktypis, A.; Zoumpopoulou, G.; Tsakalidou, E. Omics approaches to assess flavor development in cheese. *Foods* 2022, 11, 188.
35. García Fontán, M.C.; Michinel, M.; Franco, I.; Prieto, B.; Carballo, J. The microbiological quality of milk destined to cheese manufacture. *Alimentaria* 1999, 308, 53–60.
36. Altekruze, S.F.; Timbo, B.B.; Mowbray, J.C.; Bean, N.H.; Potter, M.E. Cheese-associated outbreaks of human illness in the United States, 1973 to 1992: Sanitary manufacturing practices protect consumers. *J. Food Prot.* 1998, 61, 1405–1407.
37. Gould, L.H.; Mungai, E.; Behraves, C.B. Outbreaks attributed to cheese: Differences between outbreaks caused by unpasteurized and pasteurized dairy products, United States, 1998-2011. *Foodborne Pathog. Dis.* 2014, 11, 545–551.
38. García-Fulgueiras, A.; Sánchez, S.; Guillén, J.J.; Marsilla, B.; Aladueña, A.; Navarro, C. A large outbreak of *Shigella sonnei* gastroenteritis associated with consumption of fresh pasteurized cheese. *Eur. J. Epidemiol.* 2001, 17, 533–538.
39. Baylis, C.L. Raw milk and raw milk cheeses as vehicles for infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. *Int. J. Dairy Technol.* 2009, 62, 293–307.
40. Tabla, R.; Gómez, A.; Simancas, A.; Rebollo, J.E.; Molina, F.; Roa, I. Early blowing in raw goat's milk cheese: Gas production capacity of *Enterobacteriaceae* species present during manufacturing and ripening. *J. Dairy Res.* 2018, 85, 331–338.

41. Hammad, A.M.; Eltahan, A.; Hassan, H.A.; Abbas, N.H.; Hussien, H.; Shimamoto, T. Loads of coliforms and fecal coliforms and characterization of thermotolerant *Escherichia coli* in fresh raw milk cheese. *Foods* 2022, 11, 332.
42. Ritschard, J.S.; Van Loon, H.; Amato, L.; Meile, L.; Schuppler, M. High prevalence of Enterobacteriales in the smear of surface-ripened cheese with contribution to organoleptic properties. *Foods* 2022, 11, 361.
43. Giraffa, G. Enterococcus. In *Encyclopedia of Food Microbiology*, 2nd. ed.; Batt, C.A., Tortorello, M.L., Eds.; Elsevier Ltd.: Amsterdam, The Netherlands, 2014; pp. 674–679. ISBN 978-0-12-384733-1.
44. Byappanahalli, M.N.; Nevers, M.B.; Korajkic, A.; Staley, Z.R.; Harwood, W.J. Enterococci in the environment. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2012, 76, 685–706.
45. Vanos, V. Importance of streptococci group D in fermented dairy products, as indicators of quality assurance in comparison with coliforms. *Bull. Int. Dairy Fed.* 1991, 264, 20–25.
46. Terzic-Vidojevic, A.; Veljovic, K.; Popovic, N.; Tolinacki, M.; Golic, N. Enterococci from raw-milk cheeses: Current knowledge on safety, technological, and probiotic concerns. *Foods* 2021, 10, 2753.
47. Lauková, A.; Tomáška, M.; Kmet', V.; Strompfová, V.; Simonová, M.P.; Dvororoznáková, E. Slovak local ewe's milk lump cheese, a source of beneficial *Enterococcus durans* strain. *Foods* 2021, 10, 3091.
48. W. Bockelmann (2003). 21 - The production of smear cheeses Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, P. 470-491.
49. W. Bockelmann (2011). Cheese | Smear-Ripened Cheeses. *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edition), P. 753-766. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00089-3>.
50. W. Bockelmann, K.P. Willems, H. Neve, K.H. Heller (2005). Cultures for the ripening of smear cheeses. *International Dairy Journal*, 15(6–9), P. 719-732. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.08.022>.
51. Codex Alimentarius Commission (CAC). Hazard analysis and critical control point (HACCP) system and guidelines for its application. Report of the 29th session of the

- Codex Committee on food hygiene, Alinorm. 97/13A, Appendix II. Rome: Codex Alimentarius Commission, 1996. 1996
52. Mortimore S, Wallace C. HACCP – A Practical Approach. 3rd ed. London: Chapman and Hall; 2013
53. Suherman S, Janitra AA, Budhiary KNS, Pratiwi WZ, Idris FA. Review on hazard analysis and critical control point (HACCP) in the dairy product: Cheese. IOP Conference Series: Material Science and Engineering. 2021;1053:012081.
54. Jan T, Yadav KC, Borude S. Study of HACCP implementation in Milk processing Plant at Khyber Agro Pvt. Ltd in Jammu & Kashmir. Journal of Food Processing Technology. 2016;7:610.
55. FAO. Gateway to Dairy Production and Products. Milk Processing; 2022. Available from: <https://www.fao.org/dairy-production-products/processing/en/>.
56. Canadian Centre for Occupational Health & Safety (CCOHS). OSH Answers Fact Sheets. 2018. Available from:
57. Zhao M. The Design of HACCP Plan for a Small-Scale Cheese Plant. Menomonie, WI, United States: The Graduate School University of Wisconsin-Stout; 2003.
58. Assifonte Hygiene Guide (AHG). European Guide for the hygienic manufacture of Processed Cheese. 2018.