

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2026-1-2620>
<https://elibrary.ru/ZCHVVI>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Исследования по подбору пропионовокислых бактерий для бескорковых полутвердых сыров



Г. Н. Рогов^{ID}, Т. С. Смирнова*^{ID}, Е. В. Топникова^{ID}

Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия^{ROR}, Углич, Россия

Поступила в редакцию: 08.10.2025

Принята после рецензирования: 06.11.2025

Принята к публикации: 13.01.2026

*e-mail: t.smirnova@fnpcs.ru

© Г. Н. Рогов, Т. С. Смирнова, Е. В. Топникова, 2026



Аннотация.

Современные тенденции сыроделия требуют специализированного подхода к отечественным закваскам, адаптированным к специфическим параметрам производства сыра. Изучение и систематизация свойств коллекционных штаммов пропионово-кислых бактерий позволит использовать их в конкретных технологических схемах производства и тем самым повысить стабильность и снизить риск образования брака. Цель исследования – выявить штаммы пропионовокислых бактерий из коллекции микроорганизмов ВНИИМС, обладающие промышленно значимыми свойствами и являющиеся перспективными для производства полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания.

Исследовали 10 штаммов пропионовокислых бактерий. Газообразующую активность определяли с помощью градуированных сосудов Дунбара; антагонистическую активность основной и защитной заквасочной микробиоты к штаммам – методом лунок; развитие в модельных питательных средах с различным уровнем pH, концентрацией нитратов, лизоцима и соли определяли на спектрофотометре при длине волны 600 нм. В сырах стандартизованными методами оценивали динамику развития исследуемых бактерий и характерность формирования органолептических свойств.

По результатам газообразующей активности отобрано 6 перспективных штаммов пропионовокислых бактерий, с которыми проводились исследования технологически значимых свойств и выработка сыров. Для активного газообразования исследованных штаммов требуются азотистые вещества в доступной форме. Активная кислотность ниже 5,6 ед. являлась критическим фактором их развития. Лизоцим в дозе 2,5 г/100 л не оказывал негативного влияния на развитие пропионовокислых бактерий, а нитраты при дозе 5–15 г/100 л в большинстве случаев снижали скорость развития отобранных штаммов. Защитные культуры *Lactocaseibacillus rhamnosus*, *Lactocaseibacillus casei*, *Lactocaseibacillus paracasei* оказывали избирательное антагонистическое действие на некоторые исследованные штаммы, а культуры *Lactiplantibacillus plantarum* ингибировали их развитие. Антагонизм к пропионовокислым бактериям основной заквасочной микробиоты – лактококков – носит штамм-специфический характер. Созревание сыра с рассматриваемыми бактериями при оптимальных температурных режимах в полимерных пакетах, подобранных по газопроницаемой способности, влияло на развитие рисунка в сырном матриксе, а использование концентрированного рассола при посолке способствовало уменьшению количества глазков в подкорковом слое.

Отобраны перспективные штаммы пропионовокислых бактерий по способности к газообразованию и устойчивости к негативным факторам внешней среды, которые в совокупности с направленным использованием отдельных технологических приемов обеспечивают стабильность качества сыра.

Ключевые слова. Сыроделие, пропионовокислые бактерии, технологические факторы, защитные культуры, температура созревания, лизоцим, нитраты, активная кислотность, посолка

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по приоритетным направлениям научно-технологического развития № 075-15-2024-483.

Для цитирования: Рогов Г. Н., Смирнова Т. С., Топникова Е. В. Исследования по подбору пропионовокислых бактерий для бескорковых полутвердых сыров. Техника и технология пищевых производств. 2026. Т. 56. № 1. С. 26–43. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2026-1-2620>

Studies on the Selection of Propionic Acid Bacteria for Rindless Semi-Hard Cheeses



Gregory N. Rogov^{ORCID}, Tatyana S. Smirnova*^{ORCID}, Elena V. Topnikova^{ORCID}

All-Russian Scientific Research Institute of Butter and Cheese Making^{ROR}, Uglich, Russia

Received: 08.10.2025
Revised: 06.11.2025
Accepted: 13.01.2026

*e-mail: t.smirnova@fnpcs.ru
© G.N. Rogov, T.S. Smirnova, E.V. Topnikova, 2026



Abstract.

Modern cheese-making trends require a specialized approach to domestic starter cultures adapted to specific cheese production parameters. Studying and systematizing the properties of collection strains of propionic acid bacteria will enable their use in specific technological schemes of production, thereby increasing stability and reducing the risk of defects. The aim of the study is to identify strains of propionic acid bacteria from the VNIIMS microorganism collection that possess industrially significant properties and are promising for the production of semi-hard cheeses with low-temperature second heating.

Ten strains of propionic acid bacteria were investigated. Gas-forming activity was determined using graduated Dunbar vessels; antagonistic activity of the main and protective starter microbiotas against the strains was assessed by the well diffusion method; development in model nutrient media with varying pH levels, nitrate concentrations, lysozyme, and salt was measured spectrophotometrically at a wavelength of 600 nm. In cheeses, the dynamics of the development of the studied bacteria and the formation of organoleptic properties were evaluated using standardized methods.

Based on gas-forming activity results, 6 promising strains of propionic acid bacteria were selected for further studies of technologically significant properties and cheese production trials. For active gas formation, the investigated strains require nitrogenous substances in an accessible form. Active acidity below 5.6 units was a critical factor for their development. Lysozyme at a dose of 2.5 g/100 L had no negative effect on the development of propionic acid bacteria, while nitrates at doses of 5–15 g/100 L reduced the growth rate of most selected strains in the majority of cases. Protective cultures *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Lacticaseibacillus casei*, *Lacticaseibacillus paracasei* exhibited selective antagonistic effects on some of the studied strains, while *Lactiplantibacillus plantarum* cultures inhibited their development. Antagonism toward propionic acid bacteria from the main starter microbiota – lactococci – is strain-specific. Cheese ripening with the studied bacteria under optimal temperature regimes in polymer packages selected for gas permeability influenced the development of the eye pattern in the cheese matrix, while the use of concentrated brine during salting contributed to reducing the number of eyes in the sub-cortical layer.

Promising strains of propionic acid bacteria were selected based on their gas-forming ability and resistance to adverse environmental factors, which, in combination with targeted use of specific technological techniques, ensure cheese quality stability.

Keywords. Cheese production, propionic acid bacteria, technological factors, protective cultures, ripening temperature, lysozyme, nitrates, active acidity, salting

Funding. The study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation as a major research project in priority areas of scientific and technological development (Grant No. 075-15-2024-483).

For citation: Rogov GN, Smirnova TS, Topnikova EV. Studies on the Selection of Propionic Acid Bacteria for Rindless Semi-Hard Cheeses. Food Processing: Techniques and Technology. 2026;56(1):26–43. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2026-1-2620>

Введение

Группа сыров, созревающих с участием пропионовокислых бактерий (ПКБ), завоевывает все большую популярность у потребителей из-за особенностей их вкуса и рисунка. Как отмечается экспертами, изучающими рынок сыра, ПКБ особенно привлекательны для крупных производителей сыров, имеющих необходимые ресурсы молока-сырья [1–3]. Традиционно выпускаемый сыр этой группы – Эмменталь, созревающий в головках больших размеров массой до 75 кг.

Он обладает характерными органолептическими свойствами, признанными покупателями (сырный вкус; выраженный сладковато-пряный и даже ореховый привкус; рисунок, состоящий из крупных глазков округлой формы). Однако Эмменталь созревает достаточно долго, поэтому в момент растущей популярности сыров с пропионовокислыми бактериями производитель все чаще стал задумываться о том, как получить высококачественный сыр с характерным вкусом и рисунком при сокращении времени на его производство.

Логичным вариантом было создать сыр с ПКБ на основе технологии сыра Гауда. Если технология сыра Эмменталь родилась естественным образом и пропионово-кислые бактерии – его нативная микробиота, то искусственное введение *Propionobacterium* spp. в технологию такого сыра не всегда приводит к ожидаемым результатам. Чаще всего возникают проблемы с рисунком [4, 5].

Внесение пропионовокислых бактерий в сыры, производимые с применением низкой температуры второго нагревания, не является типичным для полутвердых сыров из-за высокого содержания влаги и активного развития молочнокислой микробиоты. Традиционный способ созревания подобных сыров предполагает формирование корки с определенными характеристиками и пористостью, что приводит к значительным потерям сырной массы и повышению себестоимости продукта [6]. Роль ПКБ при производстве подобных сыров заключается не только в образовании характерного вкуса и запаха, но и в формировании крупных глазков [7], поэтому важным аспектом является правильный подбор микроорганизмов данной группы.

В основном подбор штаммов пропионовокислых бактерий предлагается проводить по аспартазной активности [5]. Данный метод основан на том, что штаммы с высокой аспартазной активностью сбраживают большее количество лактата и извлекают больше энергии. В результате их численность в сыре выше при использовании тех штаммов, которые перерабатывают только небольшое количество аспартата. Однако сбраживание большого количества лактатов не всегда означает образование большого количества газа и, как следствие, образование необходимого рисунка, свойственного для данной группы сыров.

В своей работе М-Т. Fröhlich-Wyder *et al.* [8] указывают, что высокая аспартазная активность, как правило, сопровождается более интенсивным ростом пропионовокислых бактерий, что приводит к увеличению концентрации пропионата, ацетата и CO_2 . При этом авторы одновременно указывают, что невозможно ответить на вопрос, является ли аспартазная активность причиной или просто показателем. Наиболее прост и информативен отбор штаммов пропионовокислых бактерий через непосредственное определение количества образующегося газа в модельной среде.

Для активного развития ПКБ и образования достаточного количества газа в сыре необходимы определенные условия. По результатам исследований, проведенных на сырах швейцарской группы, к таким условиям относят: наличие азотистого питания, оптимальные температуры развития и необходимый уровень активной кислотности. Возможное влияние на развитие пропионовокислых бактерий в сыре может оказать наличие в молоке ингибиторов в виде консервантов или антагонизм со стороны основной и дополнительной заквасочной микробиоты сыра [9].

В сырах источником азотистого питания для ПКБ могут служить пептиды и аминокислоты, образую-

щиеся при протеолизе молочных белков во время его производства и созревания. Протеолиз очень важен для формирования структуры и вкусовых характеристик сыров с участием пропионовокислых бактерий [10, 11]. Однако нет практической информации о взаимосвязи свободных форм азота с развитием пропионовокислых бактерий в сыре и образованием рисунка. С теоретической точки зрения, основываясь на данных прошлого века, можно ожидать, что более сильный протеолиз сыра на ранних стадиях созревания может стимулировать развитие ПКБ и, соответственно, образование газа.

На образование рисунка в сыре существенное влияние оказывают технологические режимы. М-Т. Fröhlich-Wyder *et al.* обращают внимание на то, что температура второго нагревания является лимитирующим фактором при развитии пропионовокислых бактерий [8]. При производстве сыров с низкой температурой второго нагревания этот лимитирующий фактор отсутствует. Оптимальная температура развития пропионовокислых бактерий – 30 °C [12, 13]. Несмотря на то что рост ПКБ может происходить и при более низких температурах в «теплой» камере (например при 14 °C), считается, что ее режим не должен значительно отклоняться от оптимального. При производстве сыров швейцарского типа температуру в «теплой» камере обычно поддерживают на уровне 23 °C [5]. Поскольку в сырах с низкой температурой второго нагревания массовая доля влаги в сыре значительно выше, чем в твердых сырах, это может сказаться на развитии пропионовокислых бактерий при более низких температурах относительно оптимальной.

Еще одним фактором, влияющим на газообразование культурами ПКБ, может быть активная кислотность сыра. Активная кислотность большинства полутвердых сыров к 10 суткам созревания, т. е. к моменту полного исчерпания лактозы, находится на уровне 5,4. Для ускорения созревания сыр целесообразно переводить в «теплую» камеру сразу после полного перевода лактозы в лактаты.

Современные производители все чаще используют автоматизированные линии для упаковки сыра в полимерные пакеты сразу после посолки и применяют бескорковую технологию созревания [6, 14]. Это способствует сокращению потерь сыра, уменьшает ручной труд и повышает прибыльность производства. Вместе с тем в отношении полутвердых сыров с ПКБ условия такого способа созревания не оптимизированы.

На основе анализа подходов, применяемых при изготовлении сыров других групп, сформулирована гипотеза получения бескорковых полутвердых сыров с характерным вкусовым букетом и правильным рисунком за счет использования штаммов ПКБ, обладающих высокой газообразующей активностью и устойчиво развивающихся в условиях влияния различных факторов сырьевого и технологического характера (рН среды, наличие ингибиторов и активаторов

их роста, протеолитическая активность молокосвертывающего фермента, концентрация соли, параметры газопроницаемости упаковочных материалов и условия созревания сыра). Влияние ряда факторов приведено в данной статье.

Цель исследования – выявить штаммы пропионовоксислых бактерий из коллекции микроорганизмов ВНИИМС, обладающие промышленно значимыми свойствами и являющиеся перспективными для использования в производстве полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания.

Объекты и методы исследования

Объекты исследования – культуры *Propionibacterium freudenreichii* (*P. freudenreichii*, пропионовоксислые бактерии) из коллекции экспериментальной биофабрики ВНИИМС (Углич, Россия): штаммы 1, 3, 7, 10, 143, 149, 225, 7676, 82810 и П. Штаммы выделены ранее из твердых сыров высокого качества, созревающих с участием пропионовоксислых бактерий (ПКБ) и выработанных из сырого или пастеризованного молока. Идентификацию ПКБ проводили с помощью прибора MALDI-TOF (Shenzhen Render Biotech Co, Китай) методом масс-спектрометрии (матрично-активированная лазерная десорбция / ионизация с время-пролетным разделением).

Биохимическую активность культур изучали с использованием наборов для идентификации анаэробных бактерий API 20 A (bioMérieux, Франция) в соответствии с инструкцией к тест-системе и доступом к электронной интернет-базе данных APIWEB для интерпретации результатов, полученных на стрипах. Тест-система типа API 20 A включает 20 субстратов, использование которых позволяет проводить биохимическую идентификацию бактерий на основе их способности к утилизации этих субстратов.

Газообразующую способность исследуемых культур *P. freudenreichii* определяли с помощью градуированных сосудов Дунбара. Для накопления жизнеспособных микроорганизмов ПКБ использовали жидкую питательную среду для пропионовоксислых бактерий следующего состава: дрожжевой автолизат – 1 г; хлористый кобальт – 0,01 г; калий фосфорнокислый однозамещенный – 1 г; 40 % молочная кислота – 20 мл; пептон – 10 г. Указанные компоненты растворяли в 1000 см³ водопроводной воды, перемешивали с помощью магнитной мешалки в течение 5 мин и доводили рН до 7,1 ± 0,1 30 % раствором гидроксида натрия, разливали по пробиркам с применением бутылочного дозатора и стерилизовали при температуре 121 ± 2 °С в течение 15 мин. Данную среду инокулировали 1 % культур пропионовоксислых бактерий, перемешивали с помощью вортекса в течение 5 мин и выдерживали в термостате в течение 72 ч при температуре 30 ± 1 °С.

Влияние продуктов протеолиза молока на газообразующую способность пропионовоксислых бакте-

рий оценивали на жидких модельных питательных средах. Состав этих сред одинаковый, г/1000 см³: дрожжевой автолизат – 1; хлористый кобальт – 0,01; калий фосфорнокислый однозамещенный – 1; 40 % молочная кислота – 20; пептон – 10. Отличались среды тем, что при приготовлении первой вышеуказанные компоненты вносились в водопроводную воду, а вторую среду готовили на основе гидролизованного панкреатином обезжиренного молока, разбавленного водопроводной водой в соотношении 1:2, согласно ГОСТ 33951-2016. Активную кислотность обеих сред устанавливали на уровне 6,8–7,2 гидроокисью натрия с помощью рН-метра. Измерение выделившегося газа проводили с использованием сосудов Дунбара при температуре 30 ± 1 °С, отмечая увеличение его объема каждые сутки в течение 15 суток.

Влияние активной кислотности (рН) на рост штаммов ПКБ изучали при культивировании в жидкой среде (на основе гидролизованного молока) с различными значениями рН жидкой среды. Питательную среду после приготовления доводили до рН 5,0; 5,3; 5,6; затем вносили 0,1 % 24-часовых культур на среде для пропионовоксислых бактерий, культивирование проводили при температуре 30 ± 1 °С в течение 18 ч. Характер роста оценивали по изменению оптической плотности питательной среды на спектрофотометре КФК-3-«30МЗ» (ООО «НПП Таглер», Россия) при длине волны 600 нм.

Влияние лизоцима, нитратов и соли изучали на модельных средах с внесением лизоцима в количестве 2,5 и 5,0 г/100 кг смеси; нитратов в количестве 5, 15, 30 г/100 кг смеси; соли в концентрации от 0 до 7 %. Динамику роста ПКБ также оценивали по показателям оптической плотности, измеренным на спектрофотометре КФК-3-«30МЗ» при длине волны 600 нм.

Антагонистическую активность исследуемых культур основной и защитной заквасочной микробиоты к пропионовоксислым бактериям определяли методом лунок на питательной среде для пропионовоксислых бактерий. Для эксперимента отобрали штаммы *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *L. cremoris*, *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Lacticaseibacillus casei*, *Lacticaseibacillus paracasei*. Для накопления жизнеспособных клеток молочнокислых бактерий использовали 10 % стерильное обезжиренное восстановленное молоко, инокулировали их 0,1 % исходной культуры и термостатировали при температуре 30 ± 1 °С в течение 18 ч. Культуры *P. freudenreichii* инокулировали 0,1 % исходной культуры и выращивали на жидкой среде для пропионовоксислых бактерий при температуре 30 ± 1 °С в течение 48 ч. После каждого внесения культур жидкие среды перемешивали с помощью вортекса в течение 5 мин для равномерного распределения бактериальных клеток.

При определении антагонистической активности в чашку Петри вносили 1 см³ культуры *P. freudenreichii*

и заливали ее предварительно растопленной твердой средой для пропионовокислых бактерий. Далее на подсушенной поверхности чашки Петри пробочным сверлом вырезали лунки диаметром 5–7 мм и в них помещали определенное количество культур каждого штамма молочнокислых бактерий. Чашки Петри помещали в анаэробный инкубатор и выдерживали в термостате при температуре 30 ± 1 °C в течение 120 ч. Каждые сутки проверяли зоны ингибирования вокруг лунок.

Эффективность отобранных штаммов пропионовокислых бактерий проверяли на сырах, изготовленных в экспериментально-технологическом цехе ВНИИМС (Углич, Россия). Сыры вырабатывали по технологической схеме полутвердого сыра с низкой температурой второго нагревания, формуемого из пласта с массовой долей жира в сухом веществе 45 %. Выработки проводили из коровьего молока-сырья, полученного в хозяйстве ООО «Агри-Волга» (Ярославская обл., Россия). Молоко контролировали как по общим критериям качества, так и по специфическим критериям сыропригодности стандартизованными методами (титруемая кислотность, плотность, группа чистоты, массовая доля жира, массовая доля белка, количество спор мезофильных анаэробных лактатсбраживающих бактерий, КМАФАнМ, количество соматических клеток, ингибирующие вещества, сычужная проба). Пастеризацию молока проводили при температуре 73 ± 1 °C с выдержкой в течение 20–25 с. Посолку отпрессованных сыров проводили в рассоле. Созревание сыров проходило в 3 стадии: 1 стадия – при температуре 11 ± 1 °C в течение 10 суток; 2 стадия – в «теплой» камере при температуре 24 ± 1 °C в течение 14 суток; 3 стадия – 11 дней при температуре 11 ± 1 °C.

На 5 сутки сыры после обсушки упаковывали в полимерные пакеты марки ВК 3950 с характеристиками по газопроницаемости $1750 \text{ см}^3/\text{м}^2/24 \text{ ч}/23 \text{ °C}/0 \text{ \% RH}$ (ООО «Силдэйр Каустик», Россия) и оставляли созревать в течение 35 суток. Контрольные образцы сыра созревали без покрытия до 25 суток, далее их покрывали латексом и оставляли созревать в течение аналогичного периода.

При изготовлении контрольных и опытных сыров использовали основную закваску прямого внесения БК-Углич-С (экспериментальная биофабрика ВНИИМС, Углич, Россия), содержащую в своем составе *L. lactis* subsp. *lactis*, *L. cremoris*, *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*. Отобранные по результатам исследований пропионовокислые бактерии вносили отдельно или в комбинации. В качестве защитных мер для предотвращения развития маслянокислых бактерий добавляли лизоцим в дозе 2,5 г на 100 кг молока. Для свертывания молока использовали молоко-свертывающие ферментные препараты (МФП) Chy-max Extra 600 и Chy-max Supreme 1000 (Chr. Hansen A/S, Дания).

На этом этапе объекты исследования – нормализованная молочная смесь для выработки сыра и изго-

товленные из нее контрольные и опытные сыры в процессе созревания в течение 35 суток.

Через каждые 10 суток созревания в сырах определяли количество жизнеспособных клеток пропионовокислых бактерий посевом на агар с гидролизованным молоком и молочнокислых палочек посевом на подкисленную среду MRS по ГОСТ 33951-2016.

Органолептическую оценку сыров проводили в возрасте 35 суток по ГОСТ 33630-2015 при помощи комиссии из пяти человек с квалификацией «отобранный эксперт-дегустатор».

Исследования проводили в трехкратной повторности. Для визуализации и статистической обработки полученных результатов использовали программу Microsoft Excel 2010. Для оценки статистически значимых различий между исследуемыми вариантами применяли однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. Статистически значимый результат оценивали при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Исследования по отбору штаммов пропионовокислых бактерий (ПКБ). Предполагается, что причинами необразования ожидаемого рисунка в сыре могут быть как сами пропионовокислые бактерии, так и используемые технологические приемы.

В связи с этим на начальном этапе исследований важно оценить технологически значимые свойства пропионовокислых бактерий из коллекции микроорганизмов ВНИИМС (Углич, Россия) для их целевого применения в технологии полутвердых сыров с пропионовокислыми бактериями. В исследовании рассматривалось 10 штаммов – 1, 3, 7, 10, 143, 149, 225, 82810, 7676 и П, используемых для производства твердых сыров. Результаты исследования микроорганизмов с использованием метода масс-спектрометрии с применением прибора MALDI-TOF и изучение биохимической активности культур наборами для идентификации анаэробных бактерий API 20 А подтвердили принадлежность всех исследованных культур к виду *Propionibacterium freudenreichii*.

Оценка газообразующей способности изученных штаммов пропионовокислых бактерий. Сравнительный анализ газообразующей способности, проведенный ранее [15, 16], показал, что различные штаммы ПКБ начинали образовывать газ на разных сроках культивирования. Добавление в среду гидролизованного молока, содержащего более доступные источники азота для микроорганизмов, способствовало несколько раннему образованию газа у всех изученных штаммов ПКБ. Таким образом, для улучшения газообразования пропионовокислыми бактериями и, как следствие, формирования хорошо развитого рисунка сыра необходимо наличие достаточного количества пептидов и свободных аминокислот к моменту его переноса в «теплую» камеру. Степень протеолиза зависит от протеолитической активности молоко-свертывающего

фермента и заквасочной микробиоты, поэтому можно предположить, что при производстве полутвердых сыров с использованием ПКБ необходимо выбирать ферментный препарат и / или основную заквасочную микробиоту с более выраженной протеолитической активностью.

Способность штаммов пропионовокислых бактерий образовывать газ в течение установленного периода созревания в «теплой» камере представляет особый интерес для производителей сыра. Оптимальная температура их культивирования составляет 30 ± 1 °С. Максимальное количество накопленного газа при этой температуре культивирования, обнаруженное в нашем исследовании в течение 15 дней в модельных средах, приведено на рисунке 1.

Практически все исследованные штаммы пропионовокислых бактерий проявляли более высокую актив-

ность при использовании в составе питательной среды гидролизованного молока. Кроме того, результаты экспериментов на этой среде были стабильнее и повторялись чаще, чем при исследовании на контрольной среде.

По результатам проведенной работы из изученных культур ПКБ было отобрано 6 штаммов с различной газообразующей активностью для последующего изучения и апробации в производственных условиях (П, 143, 149, 225, 7676 и 82810).

Несмотря на то что оптимальная температура развития пропионовокислых микроорганизмов составляет 30 °С, в сыроделии максимальная температура созревания не превышает 25 °С, а наиболее часто используемая – колеблется от 18 до 24 °С [4]. В связи с этим целесообразно определить способность выбранных штаммов ПКБ образовывать газ из лактатов при указанных температурах. Данные, приведенные на рисунке 2,

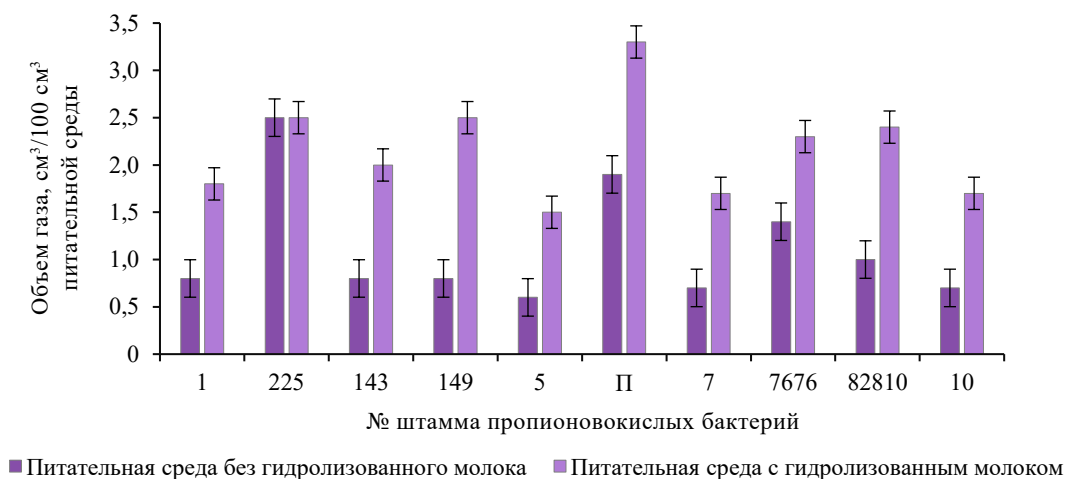


Рисунок 1. Максимальное количество выделившегося газа в течение 15 суток при температуре культивирования 30 ± 1 °С (n = 3)

Figure 1. Maximal amount of gas released over 15 days at (30 ± 1) °С (n = 3)

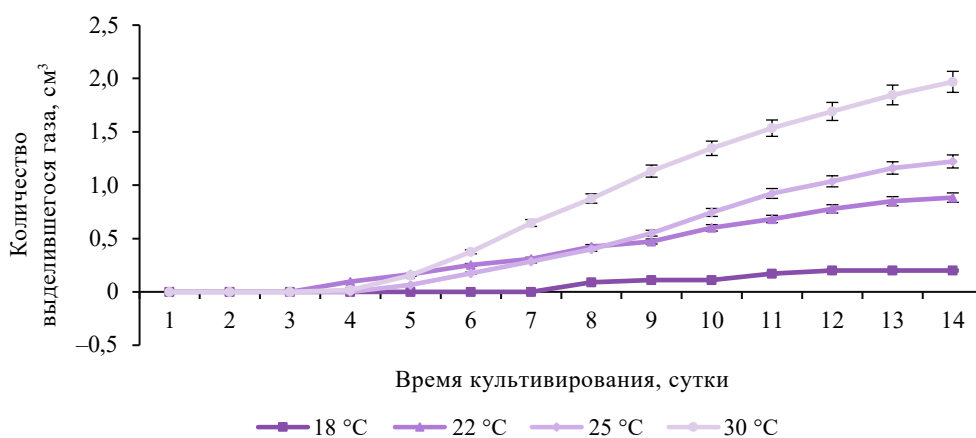


Рисунок 2. Динамика газообразования *Propionibacterium freudenreichii* в модельной питательной среде при разных температурах культивирования (n = 18)

Figure 2. Gas development rate by *Propionibacterium freudenreichii* in model nutrient medium at different cultivation temperatures (n = 18)

наглядно показывают различия в образовании газа отобранными штаммами пропионовокислых бактерий при повышении температуры культивирования (оценка газообразующей способности каждого из шести штаммов выполнена в трех повторностях).

Зависимость динамики посуточного прироста газа в сосудах Дунбара при исследованных температурах описывается линейными уравнениями с высоким уровнем аппроксимации (0,86–0,99) [15]. Коэффициент перед независимой переменной в линейной зависимости показывает скорость образования газа, см³/сутки. Скорость образования газа при снижении температуры с 30 до 25 °С уменьшалась всего в 1,4 раза, а при снижении до 22 °С – в 2,1 раза. Дальнейшее снижение температуры культивирования до 18 °С уменьшало скорость образования газа в 4,3 раза по сравнению со скоростью при 22 °С и в 9,1 раза при 30 °С. Таким образом, образование газа отобранными штаммами пропионовокислых бактерий при температурах культивирования 22–25 °С несколько ниже, чем при оптимальной температуре, что не является критичным. Вместе с тем очевидно, что использование температуры 18 °С в «теплой» камере при производстве полутвердых сыров является достаточно критичным из-за низкой скорости образования газа ПКБ. Данная температура не только препятствует образованию правильного рисунка в сыре, но и может способствовать развитию нежелательной микрофлоры в продукте ввиду высокой (по сравнению с твердыми сырами) массовой доли влаги.

Влияние активной кислотности среды на развитие пропионовокислых бактерий. Активная кислотность среды является важным фактором развития микрофлоры в сыре. Ее уровень может повлиять не только на рост пропионовокислых бактерий, но и на образование правильного рисунка в продукте.

Данные развития отобранных 6 штаммов пропионовокислых бактерий при разных уровнях активной кислотности среды (от 5,0 до 5,6 ед.) приведены на рисунке 3 на примере их культивирования при оптимальной температуре. Взятый интервал исследования обусловлен фактическими значениями активной кислотности современных полутвердых сыров в 10-суточном возрасте, т. е. перед переводом их в «теплую» камеру для активизации развития ПКБ. Однофакторный дисперсионный анализ показал отсутствие штаммовых различий в динамике развития пропионовокислых бактерий в зависимости от различного уровня pH модельной среды, поэтому на рисунке приведены средние данные по всем изученным штаммам. Максимальное стандартное отклонение составляет не более 0,012 ед. оптической плотности. Средняя точка (pH 5,3) лежит ниже прямой между крайними точками, а доверительный интервал, построенный по всем повторностям (n = 24), не пересекается с этой прямой. Прирост оптической плотности, отражающей динамику развития ПКБ в диапазоне pH от 5,0 до 5,3 ед. (A1), в 4,5 раза

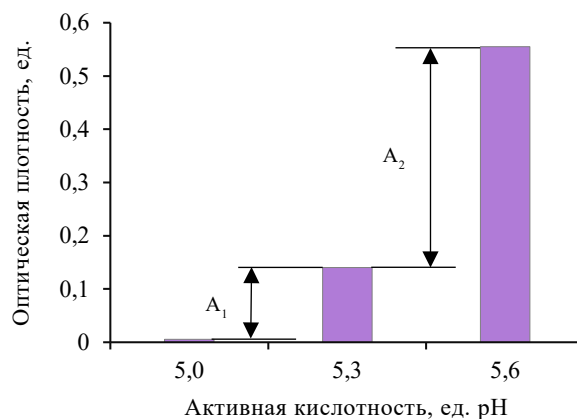


Рисунок 3. Влияние активной кислотности на развитие пропионовокислых бактерий (температура культивирования 30 ± 1 °С, зависимости построены по средним значениям, n = 24)

Figure 3. Effect of active acidity on propionic acid bacteria at 30 ± 1 °С, mean values (n = 24)

ниже прироста в диапазоне pH от 5,3 до 5,6 ед. (A2). Следовательно, с большой вероятностью можно предположить, что зависимость развития пропионовокислых бактерий от уровня активной кислотности в заданном интервале может быть описана восходящей ветвью параболы, указывающей на то, что даже при pH ниже 5,6 образование рисунка в сыре крайне затруднительно.

Полученные данные подтверждают, что уровень pH сыра критически важен для успешного роста пропионовокислых бактерий, которые отвечают за формирование рисунка, и согласуются с результатами исследований других ученых, указывающих на то, что при pH ниже 5,6 образование рисунка практически невозможно [5].

Влияние соли на развитие пропионовокислых бактерий. Применение соли в сырах играет важную роль, влияя на вкус и качество сыра. Кроме того, соль выполняет роль консерванта. Соль оказывает влияние на микрофлору в сыре за счет осмотического давления его водной фазы и вызывает дегидратацию бактериальных клеток, задержку или предотвращение их роста.

Считается, что рост пропионовокислых бактерий подавляется даже при низких содержаниях соли, на которые могут повлиять уровень pH и соотношение количества соли и влаги. Для полутвердых сыров с пропионовокислыми бактериями содержание соли в сыре обычно составляет от 0,8 до 1,3 %, т. к. соль оказывает отрицательное влияние на развитие ПКБ, образование ими углекислого газа и, соответственно, формирование рисунка в сыре.

Учитывая, что пропионовокислые бактерии являются анаэробами, ранняя упаковка сыра в полимерный материал под вакуумом может способствовать

развитию пропионовокислых бактерий по всему объему сырного матрикса. При использовании бескорковой технологии возможно образование рисунка в непосредственной близости от поверхностного слоя головки сыра, что считается пороком. Поскольку пропионовокислые бактерии имеют слабую солеустойчивость, одним из вариантов предотвращения их развития вблизи поверхности сыра может быть создание временной высокой концентрации соли в поверхностном слое головки и использование штаммов ПКБ, наиболее чувствительных к повышению концентрации NaCl. Для этого проведены исследования способности коллекционных штаммов *P. freudenreichii* развиваться и образовывать углекислый газ в среде с повышенной концентрацией соли.

На рисунке 4 показано развитие штаммов пропионовокислых бактерий при температуре 30 °С в течение 16 ч. Наиболее чувствительным к концентрации соли оказался штамм 225. Как отмечалось ранее, для образования рисунка в сыре важна не только степень развития, но и способность культур пропионовокислых бактерий образовывать газ, поэтому проведено исследование влияние NaCl на образование газа.

Не все штаммы отобранных ПБК одинаково реагировали на повышение концентрации соли в части их развития и газообразования. Есть предположения, что комбинация штаммов 149 и 225 при выработке сыра с временно повышенным градиентом соли на поверхности может снизить риск образования нежелательного рисунка в бескорковом сыре близко к поверхности продукта.

К моменту перевода в «теплую» камеру в сыре образуется много лактатов в результате активного развития основной заквасочной микробиоты и достаточно сильно снижается окислительно-восстановительный потенциал. Эти два фактора и повышенная

температура создают благоприятные условия для развития маслянокислых бактерий. Единственным сдерживающим фактором их развития является активная кислотность. Так, маслянокислые бактерии самого опасного для сыроделия вида *Clostridium tyrobutyricum* практически не развиваются при pH ниже 5,5. Однако эти значения активной кислотности, как показано выше, являются неблагоприятными и для развития пропионовокислых бактерий.

Кроме того, применение повышенных температур созревания («теплая» камера) способствует автолизу молочнокислой микробиоты и, как следствие, повышению pH в продукте. Таким образом, риск маслянокислого брожения в полутвердых сырах с ПКБ очень высокий. Это связано с тем, что пропионовокислые и маслянокислые бактерии в сыре конкурируют за лактаты, которые служат им источником энергии. Споры клостридий, выживающие после пастеризации, прорастают и перерабатывают лактат, производя избыточное количество масляной и уксусной кислот, водорода и углекислого газа. Это приводит к позднему вспучиванию сыра, появлению нетипичного слащаво-прогорклого вкуса с резким запахом масляной кислоты, а также к деформации и даже разрыву головок [17, 18].

Для предотвращения маслянокислого брожения на практике используют превентивные меры, снижающие риски порчи продукта. Кроме бактофугирования применяют внесение лизоцима [19] и нитратов, а также защитных культур, обладающих специфическим антагонистическим действием в отношении маслянокислых бактерий. Необходимо, чтобы отобранные штаммы проявляли устойчивость к указанным внешним факторам, в противном случае результат их стабильного развития и образования типичных вкусовых характеристик и рисунка будет труднодостижимым.

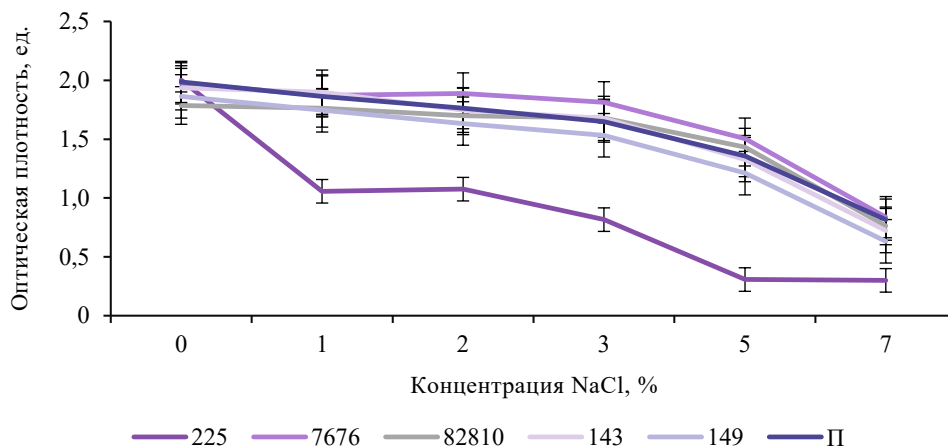


Рисунок 4. Влияние различных концентраций хлорида натрия на развитие штаммов пропионовокислых бактерий (график построен по средним значениям показателя, n = 3)

Figure 4. Effect of NaCl concentration on propionic acid bacteria at 30 ± 1 °C, mean values (n = 3)

Влияние лизоцима на развитие пропионово-кислых бактерий. В таблице 1 представлены результаты исследования влияния различных концентраций лизоцима на развитие пропионовокислых бактерий в модельных питательных средах. В эксперименте использовали рекомендованные в сыроделии дозы лизоцима и дозу, вдвое ее превышающую.

Полученные данные показали, что лизоцим в дозе 2,5 г/100 л оказал незначительное влияние на развитие отобранных штаммов пропионовокислых бактерий и может быть безопасно использован при производстве сыров с их участием.

Влияние нитратов на развитие пропионово-кислых бактерий. В таблице 2 представлены результаты исследования влияния нитратов на развитие пропионовокислых бактерий в модельных питательных средах с различными концентрациями нитратов, соответствующими обычным для сыроделия дозировкам.

Исследование выявило штамм-специфические различия в реакции пропионовокислых бактерий на уве-

личение концентрации нитратов. В то время как концентрация 5 г/100 л не оказывала ингибирующего эффекта на рост исследованных штаммов, концентрация 15 и 30 г/100 л приводила к значительному снижению роста штамма 225 (на 39,1 %), но не влияла на рост штамма 82810. Полученные данные подчеркивают необходимость учета штаммовой вариабельности в устойчивости к нитратам при подборе заквасочных культур для сыров с пропионовокислыми бактериями.

Влияние защитных культур на развитие пропионовокислых бактерий. В качестве защитных культур для предотвращения развития маслянокислых бактерий в российском сыроделии чаще всего используются *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactica-seibacillus rhamnosus*, *Lactica-seibacillus casei*, *Lactica-seibacillus paracasei* [20, 21]. Данных об их влиянии на развитие пропионовокислых бактерий не обнаружено, поэтому интерес представляло изучение данного вопроса.

Таблица 1. Развитие пропионовокислых бактерий в модельных питательных средах с различной концентрацией лизоцима к 8 ч культивирования

Table 1. Propionic acid bacteria in model nutrient media with different concentrations of lysozyme after 8 h of cultivation at 600 nm, units of optical density

Штамм пропионовокислых бактерий	Оптическая плотность при длине волны 600 нм, ед.		
	Отсутствует (контроль)	2,5 г/100 л	5,0 г/100 л
225	0,638 ± 0,008 ^a	0,629 ± 0,008 ^a	0,594 ± 0,020
149	0,689 ± 0,002 ^a	0,681 ± 0,003 ^a	0,666 ± 0,010
143	0,777 ± 0,009	0,752 ± 0,009	0,747 ± 0,020
П	0,882 ± 0,009	0,822 ± 0,014	0,786 ± 0,017
7676	0,514 ± 0,009 ^a	0,501 ± 0,008 ^a	0,495 ± 0,008
82810	0,934 ± 0,016 ^a	0,925 ± 0,009 ^a	0,916 ± 0,014

Примечание: показатели, обозначенные в таблице буквами, не имеют достоверных различий ($p > 0,1$), остальные существенно различаются с контролем.

Note: the indicators with superscripts have no reliable differences ($p > 0.1$); the rest differ significantly from the control.

Таблица 2. Развитие пропионовокислых бактерий в модельных питательных средах с различной концентрацией нитратов к 8 ч культивирования

Table 2. Propionic acid bacteria in model nutrient media with different concentrations of nitrates after 8 h of cultivation at 600 nm, units of optical density

Штамм пропионовокислых бактерий	Оптическая плотность при длине волны 600 нм, ед.			
	Отсутствует (контроль)	5 г/100 л	15 г/100 л	30 г/100 л
225	0,578 ± 0,021 ^a	0,538 ± 0,071	0,391 ± 0,071 ^a	0,352 ± 0,072 ^a
149	0,702 ± 0,002 ^a	0,689 ± 0,002	0,576 ± 0,091 ^a	0,527 ± 0,066 ^a
143	0,796 ± 0,021 ^a	0,771 ± 0,016	0,720 ± 0,029 ^a	0,673 ± 0,033 ^a
П	0,921 ± 0,014 ^a	0,896 ± 0,024	0,814 ± 0,072 ^a	0,752 ± 0,015 ^a
7676	1,038 ± 0,011 ^a	0,981 ± 0,011	0,931 ± 0,087 ^a	0,883 ± 0,067 ^a
82810	1,023 ± 0,004	1,109 ± 0,002	1,094 ± 0,004	1,019 ± 0,006

Примечание: значения показателей при добавлении нитратов, обозначенные одинаковой буквой, имеют существенные различия с контролем ($p < 0,05$).

Note: the post-nitrate values with the same superscript differ significantly from the control ($p < 0.05$).

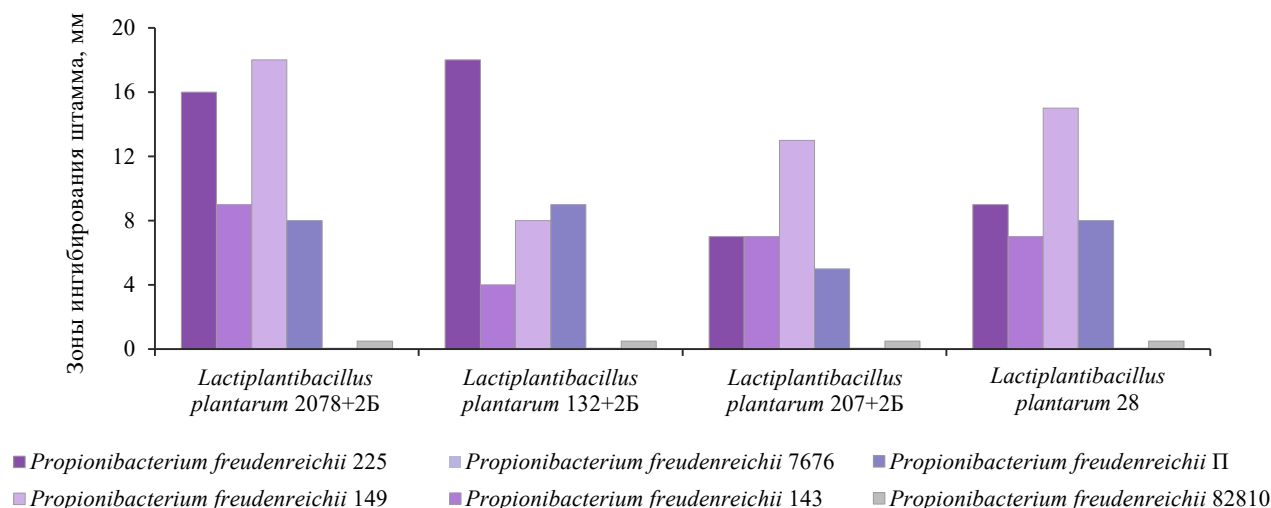


Рисунок 5. Антагонистическая активность *Lactiplantibacillus plantarum* к пропионовокислым бактериям (зависимости построены по средним значениям, n = 3, отклонения от среднего составляют 5–10 отн.%)

Figure 5. Antagonistic activity of *Lactiplantibacillus plantarum* to propionic acid bacteria (mean values, n = 3, deviations from mean 5–10 rel.%)

Данные о влиянии *L. plantarum* из коллекции экспериментальной биофабрики ВНИИМС на развитие перспективных для сыроделия штаммов пропионовокислых бактерий показаны на рисунке 5.

L. plantarum оказывал достаточно сильное влияние на рост и развитие пропионовокислых бактерий, подавляя их развитие. Наиболее выраженное ингибирующее действие проявили штаммы *L. plantarum* 2078+2Б и 132+2Б, у которых зоны ингибирования отдельных штаммов пропионовокислых бактерий (149 и 225) составили 18 и 16 мм соответственно. *L. plantarum* наименьшее влияние оказал на штаммы 7676 и 82810.

Таким образом, при подборе штаммов ПКБ в состав заквасочной микробиоты для производства сыра необходимо учитывать наличие антагонизма к *L. plantarum*, если он присутствует в составе бактериальных концентратов.

В сыроделии, кроме *L. plantarum*, в качестве защитных культур используют *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. paracasei* [22, 23]. В эксперименте протестированы 6 случайно отобранных штаммов этих защитных культур на предмет их антагонистической активности в отношении пропионовокислых бактерий с применением луночного метода. Не все исследованные штаммы защитных культур демонстрировали ингибирующее воздействие на рост пропионовокислых бактерий. Частота проявления антагонизма между штаммами *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. paracasei* и *P. freudenreichii* представлена на рисунке 6.

Исследованные штаммы *L. rhamnosus*, *L. casei* и *L. paracasei* оказывают различное, но частичное ингибирующее воздействие на рост пропионовокислых бактерий. Штаммы *P. freudenreichii* 149 и 7676

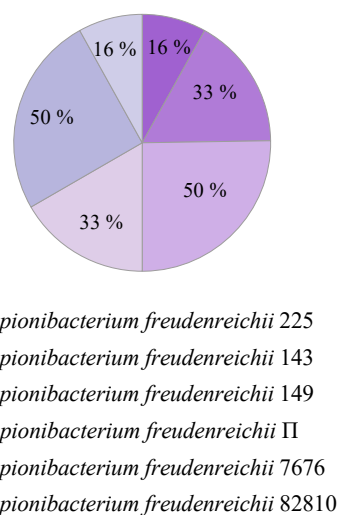


Рисунок 6. Частота встречаемости антагонизма к пропионовокислым бактериям со стороны защитных культур, используемых в сыроделии в отношении маслянокислых бактерий (зависимости построены по средним значениям, n = 3)

Figure 6. Antagonism rate to propionic acid bacteria from protective cultures used in cheese production against butyric acid bacteria (mean values, n = 3)

оказались наиболее чувствительными к этому воздействию, в то время как штаммы 82810 и 225 проявили наибольшую устойчивость.

Ввиду того, что обнаружен достаточно сильный антагонизм защитных культур в отношении пропионовокислых бактерий, возник вопрос, способна ли основная заквасочная микробиота повлиять на их развитие при производстве сыра.

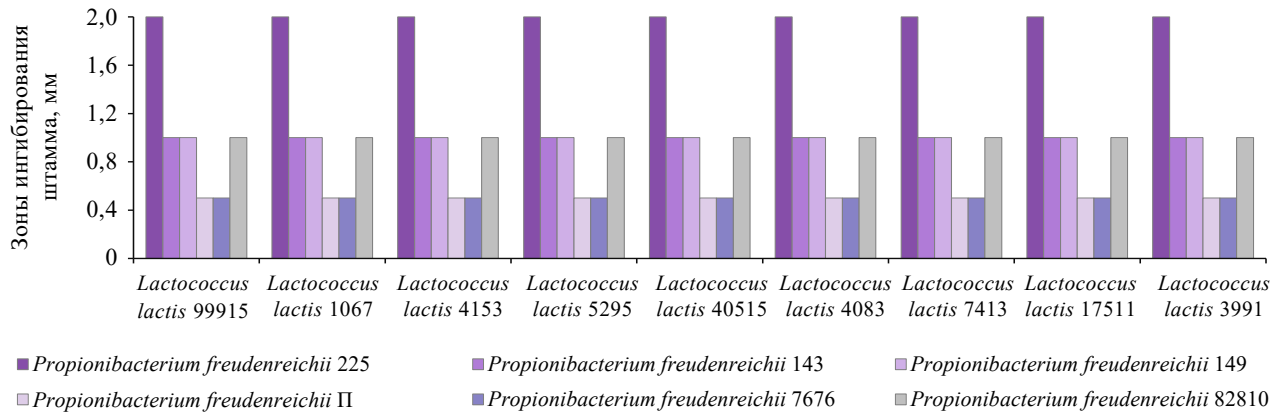


Рисунок 7. Антагонистическая активность *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* к пропионовокислым бактериям (зависимости построены по средним значениям, n = 3, отклонения от среднего составляют 5–10 отн.%)

Figure 7. Antagonistic activity of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* to propionic acid bacteria (mean values, n = 3, deviations from mean 5–10 rel.%)

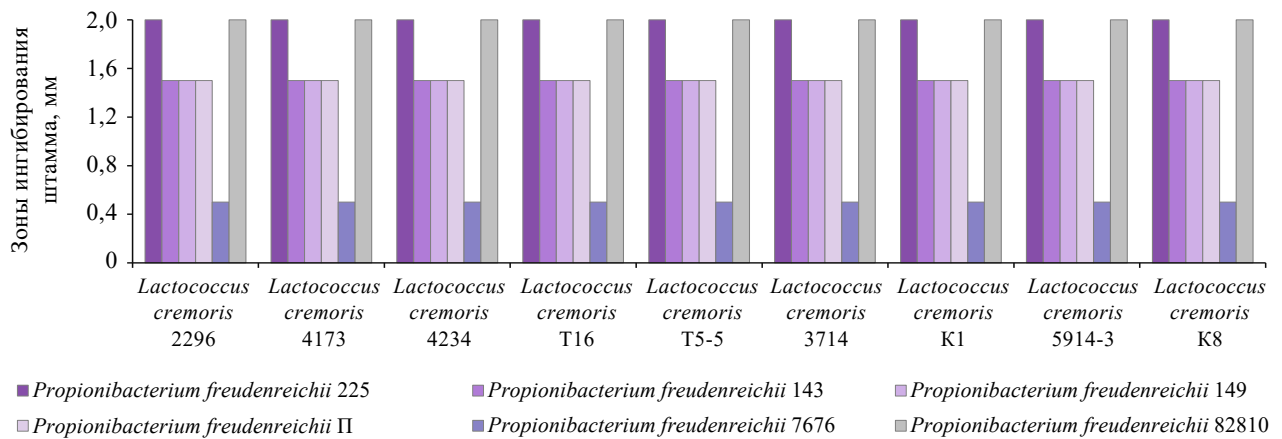


Рисунок 8. Антагонистическая активность *Lactococcus cremoris* к пропионовокислым бактериям (зависимости построены по средним значениям, n = 3, отклонения от среднего составляют 5–10 отн.%)

Figure 8. Antagonistic activity of *Lactococcus cremoris* to propionic acid bacteria (mean values, n = 3, deviations from mean 5–10 rel.%)

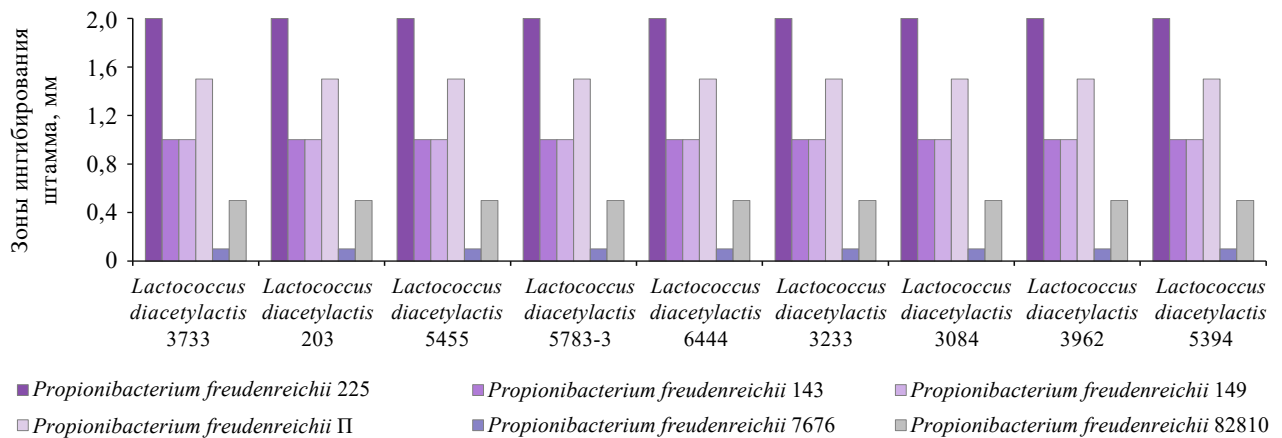


Рисунок 9. Антагонистическая активность *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* к пропионовокислым бактериям (зависимости построены по средним значениям, n = 3, отклонения от среднего составляют 5–10 отн.%)

Figure 9. Antagonistic activity of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* to propionic acid bacteria (mean values, n = 3, deviations from mean 5–10 rel.%)

Влияние основного состава микробиоты сыра на развитие пропионовокислых бактерий. В состав основной закваски для выработки сыров с пропионовокислыми бактериями входят *L. lactis* subsp. *lactis*, *L. cremoris*, *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*.

Результаты изучения антагонистической активности различных видов лактококков в отношении пропионовокислых бактерий представлены на рисунках 7–9.

В ходе исследования отмечено, что лактококки обладают низкой антагонистической активностью в отношении пропионовокислых бактерий на начальной стадии развития. Причем уровень антагонизма присутствовал у всех исследованных культур, а степень угнетения развития зависела от вида микроорганизма. Внутри вида антагонизм носил штамм-специфический характер. Кроме того, в процессе проведения исследования зафиксировано, что выявленный антагонизм на начальной стадии исследования в дальнейшем переходил в синергизм, повышая плотность популяции как лактококков, так и пропионовокислых бактерий.

Приведенные результаты исследования на модельных средах подтвердили высокую способность отобранных штаммов *P. freudenreichii* к газообразованию в условиях наличия продуктов протеолиза и уровня рН среды 5,6. Динамика их развития несущественно зависит от влияния лизоцима и существенно от нитратов. Отдельные виды защитной микробиоты способны

оказать негативное влияние на развитие ПБК, а влияние микробиоты основной заквасочной микробиоты носит преимущественно антагонистический характер на начальной стадии и синергетический характер на более поздних стадиях развития ПБК. Установленные зависимости следует проверить на сырах.

Изучение динамики развития пропионовокислых бактерий в полутвердых сырах с низкой температурой второго нагревания и его влияния на формирование показателей качества продукта. Образцы сыров вырабатывали из коровьего молока с характеристиками (табл. 3), соответствующими требованиям к сыропригодному молоку [24–27].

Влияние протеолитической активности молоко-свертывающих ферментных препаратов. Используемые в выработках молоко-свертывающие ферментные препараты (МФП) имели близкую молоко-свертывающую активность, но отличались протеолитической активностью. По данным [10, 11] *Chy*-max Extra 600 имел протеолитическую активность, определенную по ГОСТ 34430-2018, в 1,7 раза выше, чем протеолитическая активность *Chy*-max Supreme 1000 (0,48 ед. ПА/г против 0,28 ед. ПА/г).

Динамика развития пропионовокислых бактерий по ходу процесса изготовления сыра приведена в таблице 4.

Уровень развития пропионовокислых бактерий в двух сырах не изменялся, пока сыр находился в камере

Таблица 3. Показатели безопасности и сыропригодности молока-сырья, используемого для экспериментальных выработок сыров

Table 3. Safety and cheese-making properties of raw milk in experimental cheese production

Показатель	Экспериментальные данные	Требования СТО ВНИИМС 019-2019 (молоко для сыроделия)	Требования ТР ТС 033/2013
Массовая доля, %:			
жира	4,70–4,80	не менее 3,2	не менее 2,8
белка	3,32–3,40	не менее 3,0	не менее 2,8
СОМО	8,78–8,90	не менее 8,2	не менее 8,2
лактозы	4,75–4,85	не нормируется	не нормируется
минеральных солей	0,73–0,76	не нормируется	не нормируется
Плотность, кг/м ³	1029,0–1029,5	не менее 1027,0	не менее 1027,0
Точка заморзания, °С	минус 0,558–0,600	не выше минус 0,520	не выше минус 0,505
Количество соматических клеток, тыс. клеток/см ³	318,0–370,0	не более 400	не более 750
Ингибирующие вещества	отсутствуют	не допускаются	не допускаются
Антибиотики	отсутствуют	не допускаются	не допускаются
Сычужная проба, класс	I	I–II	не нормируется
КМАФАнМ, КОЕ/см ³	1,9×10 ⁴ –2,2×10 ⁴	не более 3×10 ⁵	не более 5×10 ⁵
Количество спор МАНЛМо, НВЧ спор/см ³	1,0×10 ¹ –1,5×10 ¹	не более 13	не нормируется
Количество спор аэробных микроорганизмов, спор/см ³	7,0×10 ¹ –7,4×10 ¹	не более 10 ²	не нормируется
Дрожжи, КОЕ/см ³	3,0×10 ¹ –3,2×10 ¹	не более 10 ²	не нормируется
Плесневые грибы, КОЕ/см ³	3,7×10 ¹ –3,9×10 ¹	не нормируется	не нормируется

Примечание: МАНЛМо – мезофильные анаэробные лактатсбраживающие маслянокислые микроорганизмы.

Note: МАНЛМо – mesophilic anaerobic lactate-fermenting butyric acid microorganisms.

Таблица 4. Микробиологические показатели, характеризующие технологический процесс производства и созревания сыров (n = 3)

Table 4. Microbiological technological indicators of cheese production and ripening (n = 3)

Сырье	КМАФАнМ, КОЕ/см ³ (г)	Цитратсбраживающие микроорганизмы, КОЕ/см ³ (г)	Пропионовокислые бактерии, КОЕ/см ³ (г)	БГКП, наличие / отсутствие в массе продукта	Количество спор МАНЛМО, КОЕ/см ³ (г)
Смесь после заквашивания					
1	2,4×10 ⁵ –5,0×10 ⁶	4,0×10 ⁴ –9,3×10 ⁵	1,3×10 ⁴ –4,2×10 ⁴	–	–
2	2,3×10 ⁵ –2,6×10 ⁵	1,6×10 ⁶ –3,0×10 ⁴	1,0×10 ⁴ –6,2×10 ⁴	–	–
Сыры после прессования					
1	1,0×10 ⁷ –1,2×10 ⁸	2,3×10 ⁶ –7,0×10 ⁷	6,7×10 ⁴ –3,6×10 ⁵	отсутствует в 0,1 г	–
2	1,1×10 ⁷ –1,4×10 ⁸	2,2×10 ⁶ –5,2×10 ⁷	5,9×10 ⁴ –3,2×10 ⁵	отсутствует в 0,1 г	–
Сыры после 10 суток созревания					
1	1,8×10 ⁹ –2,7×10 ⁹	1,4×10 ⁷ –7,3×10 ⁸	5,7×10 ⁵ –2,9×10 ⁶	отсутствует в 0,1 г	–
2	2,2×10 ⁹ –2,8×10 ⁹	3,8×10 ⁷ –6,7×10 ⁸	7,6×10 ⁵ –2,0×10 ⁶	отсутствует в 0,1 г	–
Сыры после 25 суток созревания					
1	2,9×10 ⁷ –2,9×10 ⁷	1,0×10 ⁷ –1,1×10 ⁷	6,1×10 ⁸ –6,3×10 ⁸	отсутствует в 0,1 г	отсутствует
2	1,3×10 ⁸ –1,1×10 ⁸	8,3×10 ⁷ –8,5×10 ⁷	1,9×10 ⁸ –2,1×10 ⁷	отсутствует в 0,1 г	отсутствует
Сыры после 35 суток созревания					
1	2,3×10 ⁷ –5,8×10 ⁸	1,5×10 ⁶ –6,0×10 ⁶	1,4×10 ⁸ –6,7×10 ⁸	отсутствует в 0,1 г	отсутствует
2	1,4×10 ⁸ –5,8×10 ⁸	3,4×10 ⁶ –5,1×10 ⁷	2,5×10 ⁸ –1,0×10 ⁸	отсутствует в 0,1 г	отсутствует

Примечание: вариант 1 – сыр, выработанный с использованием молокосвертывающего фермента Chy-max Extra 600; вариант 2 – сыр, выработанный с использованием молокосвертывающего фермента Chy-max Suprime 1000; МАНЛМО – мезофильные анаэробные лактатсбраживающие маслянокислые микроорганизмы.

Note: 1 – cheese from Chy-max Extra 600 milk-clotting enzyme; 2 – cheese from Chy-max Suprime 1000 milk-clotting enzyme; МАНЛМО – mesophilic anaerobic lactate-fermenting butyric acid microorganisms.

предварительного созревания при температуре 10 °С и оставался на уровне $(3,6 \pm 0,6) \times 10^5$ КОЕ/г, что соответствует имеющимся знаниям о минимальной температуре развития пропионовокислых бактерий [13]. Разница в развитии пропионовокислых бактерий проявилась с момента перемещения сыра в «теплую» камеру, т. е. с 10 по 25 сутки созревания. Статистически изменения в развитии пропионовокислых бактерий начали происходить через 5 суток нахождения сыра в теплой камере, что объясняется прогревом головок сыра до температуры 24 °С. Динамика развития *P. freudenreichii* с 15 по 25 сутки созревания приведена на рисунке 10.

Пропионовокислые бактерии в сырах, выработанных с молокосвертывающим препаратом Chy-max Extra 600, после 15 суток начали развиваться быстрее и к концу нахождения сыра в «теплой» камере, т. е. к 25 суткам созревания, достигли содержания жизнеспособных клеток $(3,7 \pm 0,1) \times 10^8$ КОЕ/г. В сыре, выработанном с ферментом Chy-max Suprime 1000, содержание пропионовокислых бактерий к 25 суткам созревания

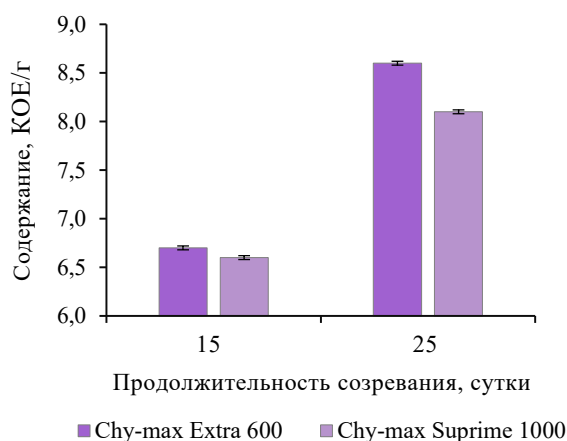


Рисунок 10. Динамика развития пропионовокислых бактерий в сыре при нахождении его в «теплой» камере (зависимости построены по средним значениям, n = 3)

Figure 10. Dynamics of propionic acid bacteria development in cheese when it is in a "warm" chamber (mean values, n = 3)

достигало уровня $(1,5 \pm 0,1) \times 10^8$ КОЕ/г. Таким образом, в сыре, выработанном с МФП с более высоким уровнем протеолиза, количество пропионовокислых бактерий к концу нахождения в «теплой» камере превышало аналогичный показатель в сыре, изготовленном с МФП с более низким уровнем протеолиза более чем в 2 раза. Это подтверждают ранее проведенные исследования на модельных средах [15], согласно которым для активного развития пропионовокислых бактерий требуются азотистые вещества в доступной форме, обеспечиваемые за счет использования фермента с более высокой протеолической активностью.

Влияние способа созревания на формирование качества полутвердого сыра с низкой температурой второго нагревания с пропионовокислыми бактериями. Проведены выработки сыра с разными способами созревания (бескорковое и традиционное), имеющие некоторые различия. При традиционном созревании сыр после посолки перемещали на обсушку и далее в камеру созревания, где до 25 суток он находился без покрытия при разных режимах в камерах созревания (до 10 суток при температуре 11 ± 1 °С, затем с 11 по 25 сутки при температуре 24 ± 1 °С). После сыр покрывали латексом и подвергали созреванию в течение 35 суток. созревание бескоркового сыра проходило в 3 стадии: 1 стадия – при температуре 11 ± 1 °С в течение 10 суток; 2 стадия – в «теплой» камере при температуре 24 ± 1 °С в течение 14 суток; 3 стадия – при температуре 11 ± 1 °С в течение 11 дней. Сыры после обсушки упаковывали на 5 сутки в полимерные пакеты марки ВК 3950 (характеристики по газопроницаемости $1750 \text{ см}^3/\text{м}^2/24 \text{ ч}/23 \text{ °C}/0 \% \text{ RH}$). Они созревали в течение 35 суток.

Результаты органолептической экспертной оценки сыров в процессе созревания в возрасте 35 суток отражены в таблице 5.

Сыр, выработанный по бескорковой технологии, обладал более эластичной консистенцией и выраженным сладковатым вкусом, в отличие от сыра традиционной технологии. Предположительно, это связано с равномерным распределением влаги в сырах, выработанных по бескорковой технологии, что способствовало более активному развитию пропионовокислых бактерий.

По физико-химическим показателям сыры после пресса, выработанные по разным технологиям, не имели значительного отличия (табл. 6). Фотографии зрелого сыра представлены на рисунках 11 и 12.

Пропионовокислые бактерии – анаэробы. При бескорковом созревании в результате вакуумирования создаются анаэробные условия. Высокое содержание влаги в продукте совместно с другими подходящими условиями (температура, сниженный окислительно-восстановительный потенциал, достаточное наличие лактатов) создают возможности для быстрого развития и, следовательно, газообразования пропионовокислых бактерий по всей массе сыра, в т. ч. близко к поверхности (рис. 13). Подобное развитие рисунка производителями сыра квалифицируется как брак [28–30]. Следовательно, необходимо найти решение для снижения активности пропионовокислого брожения в поверхностном слое. Учитывая, что некоторые штаммы ПКБ очень чувствительны к соли, целесообразно выявить варианты временного повышения градиента концентрации соли в поверхностном слое. Для этого проведены исследования и изменен режим посолки сыра в рассоле в последние часы.

Таблица 5. Органолептическая оценка сыра по традиционной (вариант 1) и бескорковой (вариант 2) технологиям (n = 3)

Table 5. Sensory profile: Traditional (1) vs. rindless (2) cheese (n = 3)

Вариант сыра	Вкус и запах (45)		Консистенция (25)		Рисунок (10)		Внешний вид (10)		Общий балл
	Характеристика	Балл	Характеристика	Балл	Характеристика	Балл	Характеристика	Балл	
1	Умеренно выраженный сырный, слегка сладковатый, пряный	42 ± 1	Эластичная	23 ± 1	Глазки крупной и овальной формы, равномерно расположены по всей массе	10 ± 0	Корка прочная, ровная, без повреждений	10 ± 0	95 ± 2
2	Умеренно выраженный сырный, слегка сладковатый, пряный	43 ± 1	Эластичная, однородная по всей массе	24 ± 1	Глазки крупной и овальной формы, равномерно расположены по всей массе	10 ± 0	Корка прочная, ровная, без повреждений	10 ± 0	97 ± 3

Таблица 6. Физико-химические показатели сыров после пресса (n = 3)

Table 6. Physicochemical parameters of cheese after pressing (n = 3)

Способ созревания сыра	Массовая доля влаги, %	Активная кислотность, ед. pH	Массовая доля жира в сухих веществах, %
Корковое созревание	46,1 ± 0,2	6,00 ± 0,02	45,0 ± 0,3
Бескорковое созревание	46,0 ± 0,3	6,10 ± 0,02	44,9 ± 0,2



Рисунок 11. Сыр, выработанный по бескорковой технологии в кондиционной зрелости 35 суток

Figure 11. Rindless cheese, 35 days



Рисунок 12. Сыр, выработанный по корковой технологии в кондиционной зрелости 35 суток

Figure 12. Traditional cheese, 35 days



Рисунок 13. Развитие пропионовокислых бактерий у поверхности сырной головки

Figure 13. Propionic acid bacteria on cheese wheel surface

Результаты исследования, включавшие упаковку сыра в полимерную пленку, посолку в более концентрированном рассоле в последние 3 ч и наблюдение за формированием рисунка, подтвердили, что посолка сыра в концентрированном растворе соли подавляет развитие пропионовокислых бактерий. В результате в опытной группе сыров наблюдалось меньшее образование пустот в подкорковом слое по сравнению с контрольной группой (рис. 14).

Использование концентрированного рассола для посолки сыра привело к значительному уменьшению количества глазков в подкорковом слое. По сравнению с традиционным методом посолки в полимерной упаковке количество глазков снизилось вдвое. По сравнению с контрольным образцом снижение составило 30 %. Это указывает на то, что изменение способа посолки может быть эффективным методом контроля рисунка сыра, особенно в подкорковом слое, и позволит улучшить качество выпускаемого сыра и минимизировать брак в процессе его производства.

Выводы

При подборе штаммов пропионовокислых бактерий (ПКБ) для производства сыра необходимо учитывать их газообразующую способность.

Для активного газообразования некоторых штаммов пропионовокислых бактерий требуются азотистые вещества в доступной форме. Скорость и начало газо-

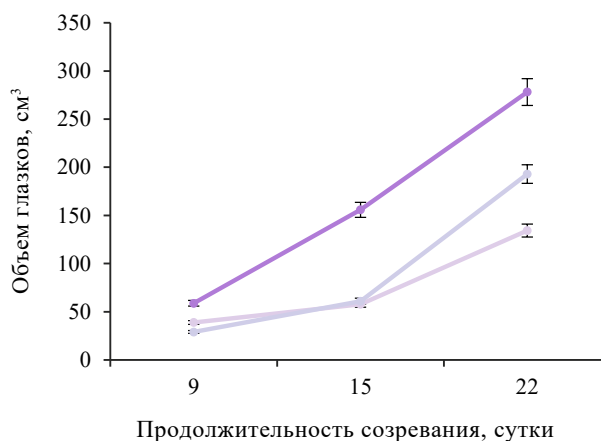


Рисунок 14. Образование газа в подкорковом слое 2 см сыра в процессе созревания при температуре 24 °С (зависимости построены по средним значениям, n = 3)

Figure 14. Gas formation in sub-cortical layer at 24 °C (mean values, n = 3)

образования зависят от содержания пептидных форм азота, что необходимо учитывать при подборе ферментных препаратов и основной заквасочной микробиоты, обладающих протеолитической активностью.

Активная кислотность сыра ниже 5,6 ед. является критическим фактором развития пропионовокислых бактерий в процессе созревания продукта и, как следствие, правильного образования рисунка в нем.

Лизоцим в дозе 2,5 г/100 л молока не оказывает негативного влияния на развитие пропионовокислых бактерий и может быть безопасно использован при производстве сыров с их участием.

Нитраты в количестве 15–30 г/100 л молока в большинстве случаев снижают скорость развития многих штаммов пропионовокислых бактерий. Степень

устойчивости пропионовокислых бактерий к нитратам определяется штаммовой особенностью.

Культуры *Lactiplantibacillus plantarum* ингибируют рост штаммов пропионовокислых бактерий. Их использование в составе закваски может замедлить развитие ПКБ, что может привести к ухудшению органолептических показателей сыра, в т. ч. к формированию плохо развитого рисунка.

Штаммы исследованных защитных культур *Lacti-caseibacillus rhamnosus*, *Lacti-caseibacillus casei*, *Lacti-caseibacillus paracasei* оказывают избирательное антагонистическое действие на некоторые штаммы пропионовокислых бактерий. Данный факт необходимо учитывать при подборе культур в состав заквасок и использовании их при производстве сыра.

Антагонистическая активность лактококков к пропионовокислым бактериям носит штамм-специфический характер.

Созревание сыра с пропионовокислыми бактериями в полимерных пакетах влияет на развитие рисунка в сырном матрице.

Использование концентрированного рассола на заключительном этапе посолки сыра привело к значительному уменьшению количества глазков в подкорковом слое.

По результатам исследований отобрано 6 перспективных штаммов *Propionibacterium freudenreichii* для использования в производстве полутвердых сыров – П, 143, 149, 225, 7676 и 82810.

Перспективным направлением продолжения исследований является изучение пробиотических свойств отобранных штаммов *P. freudenreichii* и выявление проявления этих свойств в сырах.

Критерии авторства

Г. Н. Рогов – организация и руководство проведением исследований, анализ литературы и результатов экспериментов, написание статьи. Т. С. Смирнова – проведение экспериментов, обработка результатов, написание статьи. Е. В. Топникова – участие в написании статьи и анализе результатов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность коллективам отдела микробиологических исследований и экспериментального цеха по производству сыров ВНИИМС за помощь в проведении исследования.

Contribution

G.N. Rogov supervised the research, wrote the review, formulated the results, and drafted the manuscript. T.S. Smirnova conducted the experiments, processed the results, and drafted the manuscript. E.V. Topnikova drafted the manuscript and analyzed the results.

Conflict of interest

The authors state that there is no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors would like to thank the teams of the Microbiological Research Department and the experimental work-shop of the All-Russian Research Institute of Butter and Cheese Production for their assistance.

Список литературы / References

1. Мордвинова В. А. Актуальные вопросы ассортиментной политики сыродельного предприятия. Сыроделие и маслоделие. 2021. № 5. С. 8–9. [Mordvinova VA. Actual questions of assortment policy of a cheese making enterprise. Cheese- and Buttermaking. 2021;(5):8–9. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2021-5-8-9>
2. Сурай Н. М., Таточенко А. Л., Терехова А. А., Михалев А. П., Корнева Г. В. Регионы-лидеры сыроделия: создание собственных сырных брендов и их трансформация в бренды территорий. Сыроделие и маслоделие. 2024. № 1. С. 10–25. [Suray NM, Tatochenko AL, Terekhova AA, Mikhalev AP, Korneva GV. Cheese-making regions: From local cheese varieties to regional brands. Cheese- and Buttermaking. 2024;(1):10–25. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/2073-4018-2024-1-2>
3. Джафарова А. Потребление сыров в России сегодня – изменения в предпочтениях. Сыроделие и маслоделие. 2018. № 1. С. 8–9. [Djafarova A. Consumption of cheese in Russia today – Changes in preferences. Cheese- and Buttermaking. 2018;(1):8–9. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/YPAQWX>
4. МакСуини П. Л. Г., Фокс П. Ф., Коттер П. Д., Эверетт Д. У. Сыр. Научные основы и технологии. Том 2. Технологии основных групп сыров. СПб.: Профессия, 2019. С. 287–308. [McSweeney PLG, Fox PF, Cotter PD, Everett DU. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Vol. 2. General aspects. St. Petersburg: Professiya; 2019. pp. 287–308. (In Russ.)]
5. МакСуини П. Л. Г. Практические рекомендации сыроделам. СПб.: Профессия, 2011. С. 243–262. [McSweeney PLG. Practical Recommendations for Cheesemakers. St. Petersburg: Professiya; 2011. pp. 243–262. (In Russ.)]
6. Рогов Г. Н. Упаковка бескорковых сыров: практические советы из многолетнего опыта. Сыроделие и маслоделие. 2023. № 2. С. 25–27. [Rogov GN. Packaging of rindless cheeses: Practical tips from many years of experience. Cheese- and Buttermaking. 2023;(2):25–27. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2023-2-25-27>

7. Мордвинова В. А., Свириденко Г. М. Факторы, влияющие на качество сыров типа «Маасдам». Сыроделие и маслоделие. 2015. № 3. С. 28–30. [Mordvinova VA, Sviridenko GM. The factors effecting quality of the cheese of the “Maasdam” type. Cheese- and Buttermaking. 2015;(3):28–30. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/TWRPKL>
8. Fröhlich-Wyder M-T, Bachmann HP, Bisig W, Fritsch L, Fuchsmann P, et al. Cheeses with propionic acid fermentation. In: McSweeney PLH, Cotter PD, Everett DW, Govindasamy-Lucey R, editors. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology; 2025. pp. 879–907. <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-15956-5.00025-7>
9. Давыдова Е. А., Заболоцкая Т. А. Влияние молочного сырья на формирование пороков в сырах, вырабатываемых с применением пропионовокислых бактерий. Переработка и управление качеством сельскохозяйственной продукции. 2017. № 1. С. 45–47. [Davydova EA, Zabolotskaya TA. Effect of dairy raw materials on defects in cheese with propionic acid bacteria. Processing and quality Management of Agricultural Products. 2017;(1):45–47. (In Russ.)]
10. Myagkonosov DS, Smykov IT, Abramov DV, Delitskaya IN, Ovchinnikova EG. Influence of different milk-clotting enzymes on the process of producing semihard cheeses. Food systems. 2023;6(1):103–116. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-103-116>
11. Мордвинова В. А., Делицкая И. Н., Мягконосов Д. С., Ильина С. Г., Муничева Т. Э. Молокосвертывающие ферментные препараты и органолептические показатели сыров. Сыроделие и маслоделие. 2023. № 2. С. 15–18. [Mordvinova VA, Delitskaya IN, Myagkonosov DS, Ilyina SG, Municheva TE. Milk-clotting enzyme preparations and organoleptic characteristics of cheeses. Cheese- and Buttermaking. 2023;(2):15–18. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2023-2-15-18>
12. Thierry A, Deutsch S-M, Falentin H, Dalmasso M, Cousin FJ, et al. New insights into physiology and metabolism of *Propionibacterium freudenreichii*. International Journal of Food Microbiology. 2011;149(1):19–27. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.04.026>
13. Орлова Т. Н., Функ И. А., Отт Е. Ф., Дорофеев Р. В. Пропионовокислые бактерии и их значение. Сыроделие и маслоделие. 2020. № 1. С. 28–29. [Orlova TN, Funk IA, Ott EF, Dorofeev RV. Propionic acid bacteria and their significance. Cheese- and Buttermaking. 2020;(1):28–29. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2020-1-28-29>
14. Николаева Е. А. Созревание сыра «Швейцарский» в полимерной пленке. Сыроделие и маслоделие. 2007. № 3. С. 13–14. [Nikolaeva EA. Ripening of the “Swiss” cheese in the polymer film. Cheese- and Buttermaking. 2007;(3):13–14. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/IALDCP>
15. Смирнова Т. С. Газообразующая активность пропионовокислых бактерий. Сборник трудов международной научно-практической конференции молодых учёных и специалистов отделения сельскохозяйственных наук Российской академии наук, 2024. С. 229–234. [Smirnova TS. The gas-forming activity of propionic acid bacteria. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Specialists, Department of Agricultural Sciences, Russian Academy of Sciences, 2024. pp. 229–234. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/AEBKIK>
16. Кучеренко И. В., Кураева Е. В., Дуганова А. Ю. Газообразующая активность цитратсбраживающих лактококков. Молочная промышленность. 2024. № 3. С. 30–35. [Kucherenko IV, Kuraeva EV, Duganova AYU. Gas-forming citrate-fermentation by lactococci. Dairy industry. 2024;(3):30–35. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/1019-8946-2024-3-6>
17. Лепилкина О. В., Лепилкина О. Н., Логинова И. Н. Рисунок в сырах: причины образования и методы оценки. Пищевые системы. 2021. Т. 4. № 3. С. 180–189. [Lepilkina OV, Lepilkina ON, Loginova IV. Eyes in cheese: Reasons for formation and methods of assessment. Food systems. 2021;4(3):180–189. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-3-180-189>
18. Горина Т. А. Проблема позднего вспучивания сыров и пути ее решения. Сыроделие и маслоделие. 2019. № 1. С. 27–29. [Gorina TA. The problem of late cheese blowing and the ways to solve it. Cheese- and Buttermaking. 2019;(1):27–29. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/VVHHUE>
19. Богданова Л. Л., Ковалева В. В., Белокобылова А. Д. Исследование возможности использования лизоцима микробного происхождения при изготовлении сыров. Актуальные вопросы переработки мясного и молочного сырья. 2022. № 17. С. 220–225. [Bahdanava LL, Kovaleva VV, Belokobylova AD. Study of the possibility of using lysozyme of microbial origin in the production of cheese. Analysis of the modern market for lysozyme drugs. Topical Issues of Processing of Meat and Milk Raw Materials. 2022;(17):220–225. (In Russ.)]
20. Сорокина Н. П., Бруцкая А. Л. Дополнительные культуры в сыроделии. Нужны всегда, иногда или никогда? Сыроделие и маслоделие. 2024. № 1. С. 40–46. [Sorokina NP, Brutsкая AL. Additional crops in cheese making. Are you always, sometimes or never needed? Cheese- and Buttermaking. 2024;(1):40–46. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/VSPFEK>
21. Свириденко Г. М., Сорокина Н. П. Использование защитных культур: теоретические аспекты. Молочная промышленность. 2018. № 7. С. 25–28. [Sviridenko GM, Sorokina NP. Application of the protective cultures. Theoretical aspects. Dairy industry. 2018;(7):25–28. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/UVDFGE>
22. Rezaei Z, Khanzadi S, Salari A. Biofilm formation and antagonistic activity of *Lactocaseibacillus rhamnosus* (PTCC1712) and *Lactiplantibacillus plantarum* (PTCC1745). AMB Express. 2021;(11):155. <https://doi.org/10.1186/s13568-021-01320-7>
23. Свириденко Г. М., Вахрушева Д. С., Мамыкин Д. С. Перспективы применения пропионовокислых бактерий в качестве дополнительных культур в технологии сыров пониженной жирности. Молочная промышленность. 2022. № 10. С. 36–39. [Sviridenko GM, Vakhrusheva DS, Mamykin DS. Prospects for the use of propionic acid bacteria as adjunct cultures in the technology of low-fat cheeses. Dairy industry. 2022;(10):36–39. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2022-10-36-39>

24. Свириденко Г. М., Мордвинова В. А., Вахрушева Д. С., Остроухова И. Л. Маститы: проблема безопасности, качества и сыропригодности молока сырого. Сыроделие и маслоделие. 2024. № 3. С. 58–63. [Sviridenko GM, Mordvinova VA, Vakhrusheva DS, Ostroukhova IL. Bovine mastitis: Safety and quality issues in cheese production. *Cheese- and Buttermaking*. 2024;(3):58–63. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/2073-4018-2024-3-5>
25. Логинов В. А., Линкевич Е. Т., Майоров А. А. Сезонность в производстве молока. Сыроделие и маслоделие. 2018. № 5. С. 34–36. [Loginov VA, Linkevich ET, Mayorov AA. Milk production and seasons. *Cheese- and Buttermaking*. 2018;(5):34–36. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/YZJETR>
26. Новгородская Н. В. Факторы, определяющие сыропригодность молока. Актуальные вопросы переработки мясного и молочного сырья. 2017. № 12. С. 143–148. [Novgorodska NV. Factors determining milk applicability to cheese making. *Topical Issues of Processing of Meat and Milk Raw Materials*. 2017;(12):143–148. (In Russ.)]
27. Топникова ЕВ, Мордвинова ВА, Свириденко ГМ, Данилова ЕН. Study of fatty acid composition of milk for cheese production. *Food systems*. 2019;2(4):34–37. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2019-2-4-34-37>
28. Auer J, Reited M, Senck S, Reiter A, Kastner J, *et al*. Investigation of opening eye defects and effects of different ripening profiles on eye structure in semi-hard cheese using X-ray micro-computed tomography. *Food Structure*. 2021;28:100190. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2021.100190>
29. Bücher C, Burtscher J, Domig KJ. Propionic acid bacteria in the food industry: An update on essential traits and detection methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2021;20(5):4299–4323. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12804>
30. Vélez MA, Bergamini C, Wolf IV, Peralta GH, Perotti MC. Cheese ripening: An overview of technological strategies towards process acceleration. *Food Chemistry, Function and Analysis*. 2023;73:103–135.

Дополнительная информация об авторах / Additional information about the authors

Рогов Григорий Новомирович / Grigory N. Rogov ORCID 0009-0001-4540-5314; eLIBRARY SPIN 6334-8338
Смирнова Татьяна Сергеевна / Tatiana S. Smirnova ORCID 0009-0001-2590-7093; eLIBRARY SPIN 7885-0017
Топникова Елена Васильевна / Elena V. Topnikova ORCID 0000-0003-0225-6870; eLIBRARY SPIN 8650-5907