

УДК 579.67:637.3

**Мирослава ШУГАЙ,
Наталія ЧОРНА**

СЕЛЕКЦІЯ ШТАМІВ *LACTOBACILLUS* SPP. ДЛЯ ЗАХИСНИХ КОМПОЗИЦІЙ ПРИ ВИРОБНИЦТВІ СИРІВ

Запропоновано проводити відбір молочнокислих бактерій (МКБ) з метою створення захисних композицій для виробництва твердих і напівтвердих сирів за такими критеріями: висока антагоністична активність до небажаної мікрофлори і водночас відсутність або незначний антагонізм до заквашувальних культур; помірні кислотоутворююча активність і гранична кислотність у молоці, стійкість до фізико-хімічних факторів (температури й вмісту солі) та бактеріофагів, помірний рівень протеолітичної активності, хороші синеретичні властивості молочних згустків.

Ключові слова: захисні культури, критерії відбору, молочнокислі бактерії, тверді й напівтверді сири.

© Мирослава Шугай, Наталія Чорна, 2015

*Шугай М., Чорна Н. Селекция штаммов *Lactobacillus spp.* для защитных композиций при производстве сыров. Предложено производить отбор молочно-кислых бактерий (МКБ) с целью создания защитных композиций для производства твердых и полутвердых сыров по следующим критериям: высокая антагонистическая активность к нежелательной микрофлоре и в то же время отсутствие или незначительный антагонизм к культурам закваски; умеренные кислотообразующая активность и предельная кислотность в молоке, высокая устойчивость к физико-химическим факторам (температуре и содержанию соли) и бактериофагам, умеренный уровень протеолитической активности, хорошие синергетические свойства молочных сгустков.*

Ключевые слова: защитные культуры, критерии отбора, молочнокислые бактерии, твердые и полутвердые сыры.

Постановка проблеми. Порівняно з іншими молочними ферментованими продуктами виробництво твердих і напівтвердих сирів (далі – сирів) має особливості, які роблять їх вразливими до мікробіологічного забруднення. Насамперед – це висока залежність від якості молочної сировини, зокрема рівня та спектру її мікробіологічного забруднення.

Згідно з вимогами вітчизняних нормативних документів [1–3], для виготовлення сирів можна використовувати молоко коров'яче незбиране не нижче першого гатунку, рівень забруднення якого за показником кМАФМ не перевищує 5×10^5 КУО/см³ (ДСТУ 3662). За кордоном молоко з такими показниками для виробництва сиру не використовується, а вітчизняні сировари через брак якісної молочної сировини мають шукати шляхи подолання проблеми мікробного забруднення.

Саме через неналежну якість молока-сировини пастеризація є обов'язковим технологічним етапом виробництва вітчизняних сирів. Адже переважна кількість хвороботворних мікроорганізмів чутливі до впливу високої температури й гинуть унаслідок цієї технологічної операції. Однак серед сторонньої мікрофлори молока є представники різних таксономічних груп, що за несприятливих умов можуть переходити в біологічно неактивний стан, за якого вони тимчасово втрачають здатність до репродукції. Саме тому виявити їх класичними методами, з використанням відповідних поживних середовищ, неможливо. Помічено, що зі збільшенням мікробного забруднення молока пропорційно зростає кількість уцілілої після пастеризації мікрофлори [4; 5]. Серед таких мікроорганізмів, крім спор всюдисущих бацил і кластридій, можуть виявлятися представники термостійких штамів коліформ, зокрема, *E. coli*, стафілококи, у т. ч. виду *Staphylococcus aureus* та ін. [6; 7]. Отже, традиційний у сироварінні режим пастеризації молока (72 ± 2 °С, 15 с) не гарантує повної інактивації мікрофлори, а жорсткіша термічна обробка може негативно позначитися на структурі казеїн-кальцій-фосфатного комплексу й знизити сиропридатність молока [5; 8].

Ще однією особливістю виробництва сирів є наявність етапу визрівання, який може тривати від кількох тижнів до кількох років. Час визрівання сирів обумовлений, зокрема, біологічними особливостями молока, мікробним складом заквасок, технологією, у т. ч. умовами визрівання (температура, масова частка вологи й солі в сирному тісті), величиною сирних головок тощо [9–12]. Саме тому уціліла після пастеризації молока стороння мікрофлора після відновлення її фізіологічної активності має сприятливі для розвитку можливості. До цього ще слід додати високу ймовірність вторинної контамінації, оскільки сир виробляють за нестерильних умов.

Найбільш інтенсивний розвиток сторонньої мікрофлори спостерігається під час вироблення та на початку визрівання сиру, коли молоко багате лактозою та іншими живильними компонентами, а мікрофлора закваски ще не зовсім активна, або ж її потенціалу може виявитися недостатньо для пригнічення надмірного розвитку сторонніх мікроорганізмів [5; 13; 14]. У цьому випадку існує небезпека виникнення вад мікробного походження, таких як "раннє" та "пізнє" здуття, або ж у разі розвитку *Staphylococcus aureus* сир може бути небезпечним для здоров'я людини. Із метою захисту сиру від небажаної мікрофлори одночасно із заквасками до ферментера можна вносити допоміжні культури, що виявляють значний пригнічувальний вплив на розвиток сторонніх мікроорганізмів. Такі культури відповідно до їх основної функції отримали назву "захисні".

Метою роботи є визначення найважливіших критеріїв відбору молочнокислих бактерій до захисних композицій для виробництва твердих і напівтвердих сирів.

Матеріали та методи. Проаналізовано дані світової літератури щодо вимог, які висуваються до захисних культур, та узагальнено результати зарубіжних і власних досліджень із питань пошуку біологічно активних штамів молочнокислих бактерій, перспективних для використання як захисних культур.

Використані в роботі культури МКБ (одинадцять штамів) відібрано за сукупністю технологічних характеристик із 247 штамів лактобактерій, вилучених із некомерційних кисломолочних продуктів. Лактобактерії ідентифіковано за фізіолого-біохімічними властивостями за *Бергі* [15]: 9 штамів віднесено до виду *L. casei*, та по одному штаму до *L. paracasei* і *L. acidophilus*. МКБ підтримували у відновленому знежиреному молоці та зберігали за температури побутового холодильника.

Рівень антагоністичної активності МКБ до сторонньої мікрофлори визначено методом "дифузії з лунок" [16], інтенсивність антагоністичної активності – за діаметром зон відсутності росту тест-культури навколо лунок із метаболітами МКБ. Граничну кислотність молочних згустків визначено за ГОСТ 3634–92, синергетичні власти-

вості – згідно з P. S. Panesar [17], протеолітичну здатність лактобактерій – на агарі Ейкмана. Стійкість до солі, нітриту натрію та температури 55 °С визначено в гідролізованому знежиреному молоці [18].

Повторюваність дослідів – трикратна. Отримані результати оброблено за t-критерієм Фішера-Стьюдента й представлено у вигляді середньої арифметичної та її похибки ($M \pm$). Похибка вимірювання антагоністичної активності МКБ становила 0.5 мм.

Результати дослідження. Найважливішим критерієм відбору молочнокислих бактерій для створення захисних культур є їхня антагоністична активність до небажаної мікрофлори виробництва сиру. Серед такої мікрофлори можна виокремити три групи мікроорганізмів: *технічно шкідливі*, *умовно-патогенні* та *патогенні* (табл. 1). Зазначимо, що такий поділ є дещо умовним. Серед санітарно-показових колі-форм зустрічаються патогенні штами, які за певних умов можуть спричиняти різноманітні захворювання: кишкові інфекції (діареї), ураження сечовивідних шляхів, бактеріємію, менінгіти, гнійні запалення тощо [19]. Це також стосується дріжджів і плісень [20; 21]. Певні види цих мікроорганізмів використовуються для виробництва сирів, проте потрапляння та інтенсивний розвиток у продукті, наприклад, дріжджів незаквашувального походження може призвести до виникнення таких вад, як спиртовий присмак, запах і навіть здуття сирних головок [5; 14]. Крім того, серед плісень відомі види, здатні не лише погіршувати зовнішній вигляд і смак продукту, а й утворювати мікотоксини, що спричиняють харчові отруєння людини [14; 21].

Таблиця 1

Стороння мікрофлора твердих і напівтвердих сирів

Вид/група мікроорганізмів	Значимість для здоров'я людини та виробництва		
	технічно шкідливі	умовно-патогенні	патогенні
1. Колі-форми	+++	+	+
2. <i>Staphylococcus aureus</i>	–	+++	+
3. Плісені	+++	–	+
4. Дріжджі	+++	–	+
5. Бактерії роду <i>Clostridium</i>	+++	–	+
6. Бактерії роду <i>Bacillus</i>	+	+	+
7. <i>Salmonella</i> spp.	–	–	+++
8. <i>Listeria monocytogenes</i>	–	–	+++

Примітки: +++ часто спостерігається або завдає значної шкоди;
+ спостерігається нечасто;
– відсутність ознаки.

Для дослідження антагоністичної активності відібрано лактобацили, що пригнічували розвиток тест-культур, серед яких були штами *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*,

Bacillus cereus, *Bacillus subtilis* та *Proteus vulgaris* у межах 18÷25 мм (рис. 1, табл. 2), що є хорошим показником порівняно з даними аналогічних досліджень [22; 23].

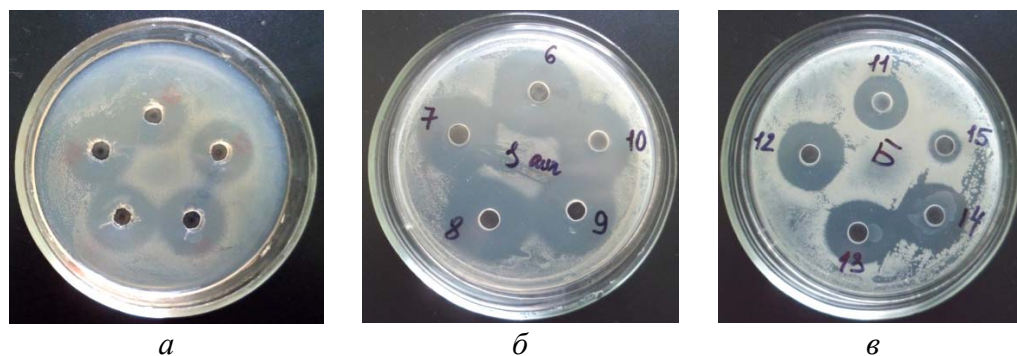


Рис. 1. Антагоністична активність лактобактерій до сторонньої мікрофлори:
а – *E. coli*; б – *S. aureus*; в – *B. cereus*

Таблиця 2

Антагоністична активність штамів *Lactobacillus* spp. *

Вид молочнокислих бактерій (МКБ)	Величина зон затримки росту тест-культур, мм					
	<i>E. coli</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>
<i>L. casei</i> (9 штамів)	23÷25	22÷25	24÷25	22÷24	22÷24	19÷22
<i>L. paracasei</i>	24	23	25	23	24	20
<i>L. acidophilus</i>	25	24	25	22	20	18

* $P < 0.05$ порівняно з відповідними контрольними зразками.

У природних умовах антагонізм як явище виявляється у пригніченні розвитку популяцій мікроорганізмів, які займають спільну екологічну нішу. При цьому антагоністична дія спрямовується не лише на представників генетично віддалених таксонів, а й споріднених видів [24; 25]. Саме тому важливим аспектом підбору штамів до складу захисних культур є визначення типу їх взаємовідносин між собою та з компонентами закваски.

За результатами досліджень, чутливість видів МКБ, що традиційно залучаються до заквашувальних препаратів – мезофільних лактококів (*L. lactis* ssp. *lactis*, *L. lactis* ssp. *cremoris*, *L. lactis* ssp. *diacetylactis*), термофільних стрептококів (*Streptococcus thermophilus*) та стрептобактерій (*L. casei* ssp. *casei*, *L. casei* ssp. *rhamnosus*, *L. plantarum*), – загалом є штамоспецифічною ознакою. Однак термофільні стрептококи показали значно вищу чутливість до досліджуваних лактобацил-антагоністів: кількість чутливих, мало чутливих та нечутливих штамів була приблизно однаковою, тоді як серед інших видів МКБ переважали нечутливі штами.

Важливою характеристикою захисних культур є відсутність або зведення до мінімуму впливу на технологічний процес виробництва продукту. Саме тому селекцію штамів-кандидатів до захисних культур слід проводити з урахуванням як цієї, так і інших вимог, що висуваються до заквашувальних культур у виробництві сиру. Для сироробства важливе значення має оптимальний кислотоутворюючий потенціал закваски, що характеризує швидкість зброджування лактози. Відхилення цього показника під час вироблення сиру в будь-який бік від оптимального рівня негативно позначається на якості продукту [5; 8; 26]. Отже, захисні культури повинні мати незначну кислотоутворюючу активність і невисоку граничну кислотність у молоці. Крім того, культури повинні характеризуватися достатнім рівнем синеретичної здатності та протеолітичної активності. Перший показник гарантує нормальне відходження сироватки під час формування сирного зерна та дає змогу мінімізувати втрату сухих речовин із сироваткою, другий – уможливило уникнути зайвих втрат казеїну й гарантує високий вихід сиру. Відібрані штами лактобацил мали хороші характеристики за цими показниками (табл. 3).

Таблиця 3

Технологічні характеристики штамів *Lactobacillus* spp.*

Показник	<i>L. casei</i> (9 штамів)	<i>L. paracasei</i>	<i>L. acidophilus</i>
Гранична кислотність у молоці, °Т	200 ÷ 230	220 ± 8	250 ± 10
Синерезис молочного згустку, %	48 ÷ 51	48 ± 2	50 ± 2
Протеолітична активність	+	+	+
Термостійкість за температури 55 °С, 1 год	+	+	+
Розвиток за наявності NaCl: 3 %	+	+	+
6 %	+/-	-	-

* $P < 0.05$ порівняно з відповідним контрольним зразком.

Умовою належного функціонування захисних культур під час виробництва сиру є проведення відбору мікроорганізмів із урахуванням технологічних факторів, серед яких – температура другого нагрівання, якій піддають сирний згусток для звільнення від зайвої сироватки, а також вплив хлориду натрію, що використовується для соління. Під час соління сирної маси в ропі відбувається поступова дифузія NaCl через поверхню сирної головки до її центру. Внаслідок цього концентрація солі у водній фазі поверхневих шарів сиру може сягати 6–7 %. Такий вміст солі спричиняє інгібування чи повну затримку розвитку заквашувальних культур [5; 27–29]. Відсоток клітин, що виживають за несприятливих умов, залежить від видових особливостей мікроорганізмів та їх штамової специфічності. Так, у наших дослідженнях вищу термостійкість за температури 55 °С і експозиції протягом 1 год мали штами термофільних паличок виду *L. acidophilus* – до 63 %, тоді як представники *L. casei* та *L. paracasei* за

цих умов характеризувались рівнем виживання 15÷18 %. Водночас за показником солестійкості в бульйоні MRS (Мана – Рогоза – Шарпа) кращі результати показали мезофільні палички *L. casei* та *L. paracasei*: при вмісті 4 % солі в середовищі ці лактобацили втратили до 21 % клітин, а за концентрації 6 % – середній рівень пригнічення їх росту збільшився до 78 % (див. *рис. 2*). У той же час внесення навіть 2 % хлориду натрію в ростове середовище пригнічувало розвиток 80 % клітин популяції ацидофільної палички порівняно з контролем. Така ж тенденція зберігалася при використанні бульйону на основі гідролізованого молока з додаванням хлориду натрію (див. *табл. 3*).

Важливою характеристикою залучених до біотехнологічних процесів мікроорганізмів є фагостійкість. Наявність у ферментері бактеріофагів – вірусів бактерій – може спричинити лізис клітин культур закваски, що призведе до зміни спрямованості ферментативних процесів і, як наслідок, до розвитку тих чи інших вад сиру. Часте використання в складі заквашувальних препаратів культур мезофільних лактококів і термофільних стрептококів сприяло значному поширенню на підприємствах молочного профілю гомологічних до них фагів [30]. Сьогодні при наукових лабораторіях, що займаються культивуванням мікроорганізмів, створено колекції типових фагів, за допомогою яких визначають чутливість до них бактеріальних культур. Колекція поширених на підприємствах молочного профілю фагів є також в Інституті продовольчих ресурсів НААН України, де проведено дослідження. Однак вона налічує фаги, активні до мезофільних лактококів і термофільних стрептококів. Ось чому ми не змогли визначити рівень фагостійкості досліджуваних лактобацил. Обнадійливим є той факт, що фаги лактобацил виявляються досить рідко, відповідно, ймовірність виникнення ситуації масового фаголізу цих культур, за умови їх нечастого використання, порівняно невисока [30; 31].

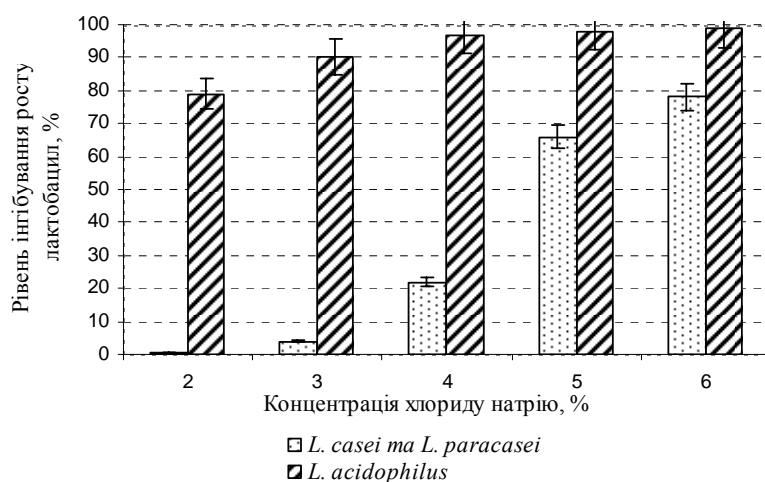


Рис. 2. Вплив хлориду натрію на розвиток штамів *L. casei*, *L. paracasei* та *L. acidophilus* у бульйоні MRS

Відібрані за сукупністю вказаних вище критеріїв лактобацили-антагоністи використано як захисні культури для виробництва напівтвердих сирів із низькою температурою другого нагрівання. До контрольних сирів, окрім закваски, додавали коліформи титру 5×10^2 КУО/см³, до експериментальних – закваску, таку саму кількість коліформ і захисну культуру чисельністю 10^5 КУО/см³. За результатами мікробіологічних досліджень у зрілих сирах, вироблених із додаванням захисних культур, спостерігали зменшення титру коліформ на 1.5–2 порядки порівняно з контрольними. Отриманий результат підтверджує правильність наших теоретичних узагальнень і практичних напрацювань.

Висновки. На основі аналізу даних світової наукової літератури, а також за результатами власних експериментальних досліджень, визначено критерії відбору мікроорганізмів для використання як захисних культур у виробництві твердих і напівтвердих сирів: висока антагоністична активність до небажаної мікрофлори і водночас відсутність або незначний антагонізм до заквашувальних культур, невисока кислотоутворююча активність і гранична кислотність у молоці, стійкість до фізико-хімічних факторів (температури та вмісту солі), помірний рівень протеолітичної активності, фагостійкість, утворювані МКБ молочні згустки з хорошими синергетичними показниками.

Характеристики селекціонованих штамів лактобацил свідчать про перспективність їхнього використання в біотехнологічних розробках як захисних культур для сирів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. ДСТУ 4421:2005. Сири тверді (український асортимент). Технічні умови (CODEX STAN C-11966-C-35-1978, NEQ). — Чинний з 2006—07—01. — К. : Держспоживстандарт України, 2005. — 10 с.
2. ДСТУ 4669:2006. Сири напівтверді. Загальні технічні умови. — Чинний з 2007—07—01. — К. : Держспоживстандарт України, 2007. — 12 с.
3. ДСТУ 6003: 2008. Сири тверді. Загальні технічні умови. — Чинний з 2009—03—01. — К. : Держспоживстандарт України, 2009. — 18 с.
4. Мордвинова В. А. Подготовка молока к выработке сыра / В. А. Мордвинова // Переработка молока. — 2011. — № 4. — С. 34—36.
5. Гудков А. В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты / А. В. Гудков ; под ред. С. А. Гудкова. — М. : ДеЛи принт, 2003. — 800 с.
6. Cretenet M. Unveiling *Staphylococcus aureus* enterotoxin production in dairy products: a review of recent advances to face new challenges / M. Cretenet, S. Even, Y. Loir // Dairy Science & Technology. — 2011. — Vol. 91, N 2. — P. 127—150.
7. Inactivation of *Staphylococcus aureus* in raw milk cheese by combinations of high-pressure treatments and bacteriocin-producing lactic acid bacteria / [L. Arqu'és, E. Rodríguez, P. Gaya, M. Medina, B. Guamis, M. Nunez] // Journal of Applied Microbiology. — 2005. — Vol. 98, N 2. — P. 254—260.

8. *Технология* молока и молочных продуктов / [Г. В. Твердохлеб, З. Х. Диланян, Л. В. Чекулаева, Г. Г. Шиллер]. — М. : Агропромиздат, 1991. — 463 с.
9. *Skeie S.* Characteristics in milk influencing the cheese yield and cheese quality / S. J. Skeie // *Anim. Feed Sci.* — 2007. — N 16 (1). — P. 130—142.
10. *Cheese yield: Factors of variation and predictive formulas. A review focused particularly on grana type cheeses* / [P. Formaggioni, A. Summer, P. Franceschi, M. Malacarne, P. Mariani] // *Ann. Fac. Med. Vet. Parma.* — 2008. — N 28. — P. 211—232.
11. *El-Sissi N. G. M.* Effect of salting levels on ripening acceleration of Domiati cheese. Egypt / N. G. M. El-Sissi, A. A. NeamatAllah // *J. Dairy Sci.* — 1996. — N 24. — P. 265—275.
12. *Emmons D. B.* Factors affecting the yield of cheese / D. B. Emmons. — Brussels : Inter. Dairy Fed., 1993. — N 8.
13. *Technology of Cheesemaking* / Edited by Barry A. Law, A. Y. Tamime. — 2nd ed. — [S.l.] : Blackwell Publishing Ltd., 2010. — 483 p.
14. *Lund F.* Associated Mycoflora of Cheese / F. Lund, O. Filtenborg, J. C. Frisvad // *Food Microbiology.* — 1995. — N 12. — P. 173—180.
15. *Краткий определитель бактерий Берги* ; под ред. Дж. М. Хоулта. — М. : Мир, 1980. — 496 с.
16. *Егоров Н. С.* Основы учения об антибиотиках : учеб. — [6-е изд.] / Н. С. Егоров — М. : Изд. МГУ ; Наука, 2004. — 258 с.
17. *Panesar P. S.* Effect of Storage on Syneresis, pH, Lactobacillus acidophilus Count, Bifidobacterium bifidum Count of Aloe vera Fortified Probiotic Yoghurt / P. S. Panesar and C. Shinde // *Current Reserchin Dairy Science.* — 2012. — N 1. — P. 17—23.
18. *Скородумова А. М.* Практическое руководство по технической микробиологии молока и молочных продуктов / А. М. Скородумова. — М. : Пищепромиздат, 1963. — 308 с.
19. *Weintraub A.* Enteroaggregative *Escherichia coli*: epidemiology, virulence and detection / A. Weintraub // *J. Med. Microbiol.* — 2007. — Vol. 56. — P. 4—8.
20. *Welthagen J. J.* Yeast profile in Gouda cheese during processing and ripening / J. J. Welthagen, B. C. Viljoen // *International Journal of Food Microbiology.* — 1998. — Vol. 41. — P. 185—194.
21. *Sarimehmetoglu B.* Detection of aflatoxin M1 in cheese samples by ELISA / B. Sarimehmetoglu, O. Kuplulu, T. H. Celik // *Food Control.* — 2004. — N 15. — P. 45—49.
22. *Lindgren S.* Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations / S. Lindgren, W. Dobrogosz // *FEMS Microbiol. Rev.* — 1990. — Vol. 87. — P. 149—163.
23. *Earnshaw R. G.* The antimicrobial action of lactic acid bacteria: Natural food preservation systems / R. G. Earnshaw ; B. J. B. Wood ed. // *The lactic acid bacteria in health and disease.* — New York, 1992. — P. 211—232.
24. *Esteve I.* Bacterial symbioses. Predation and mutually beneficial associations / I. Esteve, N. Gaju // *Intern. Microbiol.* — 1999. — N 2. — P. 81—86.
25. *Квасников Е. И.* Место и значение молочнокислых бактерий в биосфере. Эскиз / Е. И. Квасников // *Микробиол. журн.* — 1992. — Т. 54, № 5. — С. 3—10.

26. *Технология сыра* : справочник / [Г. А. Белова, И. П. Бузов, К. Д. Буткус и др.] ; под общ. ред. Г. Г. Шиллера. — М. : Легкая и пищевая пром-сть. — 1984. — 312 с.
27. Upreti P. Influence of calcium and phosphorus, lactose, and salt-to-moisture ratio on Cheddar cheese quality: changes in residual sugars and water-soluble organic acids during ripening / P. Upreti, L. L. McKay, L. E. Metzger // *J. Dairy Sci.* — 2006. — N 89 (2). — P. 429—43.
28. Salt influence on surface microorganisms and ripening of soft ewe cheese / [R. Tabla, A. Gómez, J. E. Rebollo, I. Roa] // *J. Dairy Res.* — 2015. — N 82 (2). — P. 215—221.
29. Soltani M. The influence of salt concentration on the chemical, ripening and sensory characteristics of Iranian white cheese manufactured by UF-Treated milk / M. Soltani, N. Guzeler, A. A. Hayaloglu // *J. Dairy Res.* — 2015. — N 29. — P. 1—10.
30. Marcy M. B. Bacteriophages and dairy fermentations / M. B. Marcy, S. Moineau and A. Quiberoni // *Bacteriophage.* — N 2—3. — P. 149—158.
31. *Bacteriophages* in milk fermentations: diversity fluctuations of normal and failed fermentations / [H. P. Kleppen, T. Bang, I. F. Nes, H. Holo] // *International Dairy Journal.* — 2011. — N 21 (9). — P. 592—600.

Стаття надійшла до редакції 17.08.2015.

Shugai M., Tchorna N. Selection of Lactobacillus spp. for protective composition for in cheese production.

Background. Production of hard and semi-hard cheese depends significantly on the quality of raw milk, especially on the level of its microbiological contamination. Specific mode of milk pasteurization typical for cheesemaking does not guarantee complete inactivation of undesirable microflora, besides risk of secondary contamination is probable. There is also risk to obtain cheese with the defects of microbial origin. To prevent excessive development of undesirable microorganisms protective cultures are used. They have significant inhibitory effect on the growth of the above mentioned microorganisms.

The *aim* is to determine the most important criteria for the selection of lactic acid bacteria for protective compositions used in the production of hard and semi-hard cheese.

Material and methods. Basing on the complex of technological properties nine lactic bacteria were taken from 247 strains from non-commercial dairy products. They identified according to combination of physiological and biochemical properties according to [15]: 9 strains were assigned to the species *L. casei*, one strain to the species *L. paracasei* and one strain to the species *L. acidophilus*. The level of antagonistic activity of LAB concerning harmful microflora was determined by "diffusion holes" method [16], the intensity of antagonistic activity was evaluated by the diameter of no growth area of test culture around the holes with metabolites of LAB. The maximum acidity of milk clots was determined according to GOST 3634–92, synergistic affects according to [17]. Proteolytic activity of lactobacilli was determined using Eijkman agar; resistance to salt, sodium nitrite and temperature of 55 °C according to [18].

Results. The most important selection criterion is high antagonistic activity to the undesired microflora – coliform bacteria, *Staphylococcus aureus*, spore-forming microorganisms. However, the selection of microorganisms for protecting cultures should be made on the basis of their low to none antagonistic activity to the starters. Besides, the moderate parameters of acidifying activity and maximum acidity in milk should be characteristic for such milk acid bacteria, together with their resistance to physical and

chemical factors (temperature and salt content), and the milk curds produced therewith should exhibit good syneresis. Such important selection criteria of biotechnology for all microorganisms as resistance to bacteriophages should also be taken into account.

The strains of lactobacilli selected by us met these criteria: they showed antagonistic activity to test-culture of technically harmful microflora on the level of $18 \div 25$ mm, the maximum acidity of milk at the level $(200 \div 250) \text{ }^\circ\text{T}$, sufficient level of thermal stability and low sensitivity to nitrate and salt, and formed milk clots of proper $(48 \div 51 \%)$ synergistic parameters.

Conclusion. Selection criteria of microorganisms for use as protective cultures in the production of natural cheese are determined based on the analysis of world scientific data together with the results of own experimental studies. Characteristics of lactobacilli strains we have selected prove their perspective use in biotechnological developments as protective cultures for cheese.

Keywords: protective culture, selection criteria, lactic acid bacteria, hard and semi-hard cheese.

REFERENCES

1. DSTU 4421:2005. Syry tverdi (ukrai'ns'kyj asortyment). Tehnichni umovy (CODEX STAN C-11966-C-35-1978, NEQ). — Chynnyj z 2006—07—01. — K. : Derzhspozhyvstandart Ukrainy, 2005. — 10 s.
2. DSTU 4669:2006. Syry napivtverdi. Zagal'ni tehnicni umovy. — Chynnyj z 2007—07—01. — K. : Derzhspozhyvstandart Ukrainy, 2007. — 12 s.
3. DSTU 6003: 2008. Syry tverdi. Zagal'ni tehnicni umovy. — Chynnyj z 2009—03—01. — K. : Derzhspozhyvstandart Ukrainy, 2009. — 18 s.
4. Mordvinova V. A. Podgotovka moloka k vyrabotke syra / V. A. Mordvinova // Pererabotka moloka. — 2011. — № 4. — S. 34—36.
5. Gudkov A. V. Syrodellie: tehnologicheskie, biologicheskie i fiziko-himicheskie aspekty / A. V. Gudkov ; pod red. S. A. Gudkova. — M. : DeLi print, 2003. — 800 s.
6. Cretenet M. Unveiling *Staphylococcus aureus* enterotoxin production in dairy products: a review of recent advances to face new challenges / M. Cretenet, S. Even, Y. Loir // Dairy Science & Technology. — 2011. — Vol. 91, N 2. — P. 127—150.
7. Inactivation of *Staphylococcus aureus* in raw milk cheese by combinations of high-pressure treatments and bacteriocin-producing lactic acid bacteria / [L. Arqués, E. Rodr'iguez, P. Gaya, M. Medina, B. Guamis, M. Nunez] // Journal of Applied Microbiology. — 2005. — Vol. 98, N 2. — P. 254—260.
8. Tehnologija moloka i molochnyh produktov / [G. V. Tverdohleb, Z. H. Dilanjan, L. V. Chekulaeva, G. G. Shiller]. — M. : Agropromizdat, 1991. — 463 s.
9. Skeie S. Characteristics in milk influencing the cheese yield and cheese quality / S. J. Skeie // Anim. Feed Sci. — 2007. — N 16 (1). — P. 130—142.
10. Cheese yield: Factors of variation and predictive formulas. A review focused particularly on grana type cheeses / [P. Formaggioni, A. Summer, P. Franceschi, M. Malacarne, P. Mariani] // Ann. Fac. Med. Vet. Parma. — 2008. — N 28. — P. 211—232.
11. El-Sissi N. G. M. Effect of salting levels on ripening acceleration of Domiati cheese. Egypt / N. G. M. El-Sissi, A. A. NeamatAllah // J. Dairy Sci. — 1996. — N 24. — P. 265—275.
12. Emmons D. B. Factors affecting the yield of cheese / D. B. Emmons. — Brussels : Inter. Dairy Fed., 1993. — N 8.
13. Technology of Cheesemaking / Edited by Barry A. Law, A. Y. Tamime. — 2nd ed. — [S.l.] : Blackwell Publishing Ltd., 2010. — 483 p.
14. Lund F. Associated Mycoflora of Cheese / F. Lund, O. Filtenborg, J. C. Frisvad // Food Microbiology. — 1995. — N 12. — P. 173—180.

15. *Kratkij opredelitel' bakterij Bergi* ; pod red. Dzh. M. Hoult. — M. : Mir, 1980. — 496 s.
16. *Egorov N. S. Osnovy uchenija ob antibiotikah : uceb.* — [6-e izd.] / N. S. Egorov — M. : Izd. MGU ; Nauka, 2004. — 258 s.
17. *Panesar P. S. Effect of Storage on Syneresis, pH, Lactobacillus acidophilus Count, Bifidobacterium bifidum Count of Aloe vera Fortified Probiotic Yoghurt* / P. S. Panesar and C. Shinde // *Current Reserchin Dairy Science*. — 2012. — N 1. — P. 17—23.
18. *Skorodumova A. M. Prakticheskoe rukovodstvo po tehničeskoj mikrobiologii moloka i molochnyh produktov* / A. M. Skorodumova. — M. : Pishhepromizdat, 1963. — 308 s.
19. *Weintraub A. Enteroaggregative Escherichia coli: epidemiology, virulence and detection* / A. Weintraub // *J. Med. Microbiol.* — 2007. — Vol. 56. — P. 4—8.
20. *Welthagen J. J. Yeast profile in Gouda cheese during processing and ripening* / J. J. Welthagen, B. C. Viljoen // *International Journal of Food Microbiology*. — 1998. — Vol. 41. — P. 185—194.
21. *Sarimehmetoglu B. Detection of aflatoxin M1 in cheese samples by ELISA* / B. Sarimehmetoglu, O. Kuplulu, T. H. Celik // *Food Control*. — 2004. — N 15. — P. 45—49.
22. *Lindgren S. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations* / S. Lindgren, W. Dobrogosz // *FEMS Microbiol. Rev.* — 1990. — Vol. 87. — P. 149—163.
23. *Earnshaw R. G. The antimicrobial action of lactic acid bacteria: Natural food preservation systems* / R. G. Earnshaw ; B. J. B. Wood ed. // *The lactic acid bacteria in health and disease*. — New York, 1992. — P. 211—232.
24. *Esteve I. Bacterial symbioses. Predation and mutually beneficial associations* / I. Esteve, N. Gaju // *Intern. Microbiol.* — 1999. — N 2. — P. 81—86.
25. *Kvasnikov E. I. Mesto i znachenie molochnokislyh bakterij v biosfere. Jeskiz* / E. I. Kvasnikov // *Mikrobiol. zhurn.* — 1992. — T. 54, № 5. — S. 3—10.
26. *Tehnologija syra : spravochnik* / [G. A. Belova, I. P. Buzov, K. D. Butkus i dr.] ; pod obshh. red. G. G. Shillera. — M. : Legkaja i pishhevaja prom-st'. — 1984. — 312 s.
27. *Upreti P. Influence of calcium and phosphorus, lactose, and salt-to-moisture ratio on Cheddar cheese quality: changes in residual sugars and water-soluble organic acids during ripening* / P. Upreti, L. L. McKay, L. E. Metzger // *J. Dairy Sci.* — 2006. — N 89 (2). — P. 429—43.
28. *Salt influence on surface microorganisms and ripening of soft ewe cheese* / [R. Tabla, A. Gómez, J. E. Rebollo, I. Roa] // *J. Dairy Res.* — 2015. — N 82 (2). — P. 215—221.
29. *Soltani M. The influence of salt concentration on the chemical, ripening and sensory characteristics of Iranian white cheese manufactured by UF-Treated milk* / M. Soltani, N. Guzeler, A. A. Hayaloglu // *J. Dairy Res.* — 2015. — N 29. — P. 1—10.
30. *Marcy M. B. Bacteriophages and dairy fermentations* / M. B. Marcy, S. Moineau and A. Quiberoni // *Bacteriophage*. — N 2—3. — P. 149—158.
31. *Bacteriophages in milk fermentations: diversity fluctuations of normal and failed fermentations* / [H. P. Kleppen, T. Bang, I. F. Nes, H. Holo] // *International Dairy Journal*. — 2011. — N 21 (9). — P. 592—600.