

P137517

KP.





**Вологодского Молочно - Хозяйственного
Института**

Бюллетени: №№ 67 и 68

В. И. Верещагина

**Бактериологический анализ процесса
созревания сыра ромадур**

С. Б. Панфилов

**К микробиологии сыров
из пастеризованного молока**

„СЕВЕРНЫЙ ПЕЧАТНИК“

ВОЛОГДА

1928

ИЗДАТЕЛЬСТВО

„СЕВЕРНЫЙ ПЕЧАТНИК“

ПРАВЛЕНИЕ: г. Вологда, ул. К. Маркса, № 70. Книжный магазин
г. Вологда, Каменный мост.

Труды Вологодского Молочно-Хозяйственного Института.

Том I.

Вып. № 1.

- М. Егунов.** Молочно-хозяйственная опытная станция. Краткий обзор ее деятельности в 1913—14 году.
1. **М. Егунов.** Клетка, ее рост и размножение. Исследование по физической микробиологии в применении, главным образом, к молочно-кислому ферменту.
 2. **Е. Полторакова.** Анализ питьевой воды по культурам на агаре с нейтральротом.
 3. **А. Тюлин.** Число жировых шариков и объем их в сборном молоке.
 4. **С. Перов.** Исследование электропроводности коровьего молока.
 5. **Е. Смирнова.** Сравнение методов определения иодного числа по Гюблю, Виссу и Ганусу.
 6. **В. Гаман.** О новых методах определения казеина в молоке.
- Л. Моляков.** Рассадник семян кормовых трав при Молочно-Хозяйственном Институте.

Приложения: I. Анализы масла. II. Анализы молока. III. Данные по электропроводности молока.

Вып. № 2.

- М. Егунов.** Молочно-хозяйственная опытная станция. Обзор ее деятельности в 1915 и 1916 г. по апрель.
7. **М. Егунов.** О некоторых следствиях теории роста.
 8. **С. Перов.** Электропроводность молока, как способ для открытия прибавления воды и консервирующих веществ.
 9. **Н. Косолапова.** Анализы голландских сыров Костромской губ.
 10. **С. Перов.** Способ количественного определения казеина в молоке.
 11. **Е. Полтаркова.** Из лабораторной практики. (О нарастании кислотности в культурах молочного микроба, продолжительность сохранения молока при различных количествах формалина, конкурс артельного масла, устроенный Вологодским Обществом Сел. Хозяйства).
- П. О. Широких.** Справка по организации Вологодского Молочно-Хозяйственного Института с 1912 г. по сентябрь 1916 г.
- Его же.** Краткий очерк хода строительных работ по Вологодскому Молочно-Хозяйственному Институту.
- Учреждения Вологодского Молочно-Хозяйственного Института.
- П. И. Болдырев.** Станция испытания машин при Вологодском Молочно-Хозяйственном Институте.
- В. Черкасов.** Отчет о деятельности приемного покоя Вологодского Молочно-Хозяйственного Института к 1-му января 1916 г.
- А. Бачин.** Отчет по Школе молочного хозяйства и скотоводства 1-го разряда при ВМХИ.

Приложения: I. Анализы масла. II. Анализы молока. III. Данные по электропроводности молока.



Arbeiten des Milchwirtschaftlichen Instituts zu Wologda
SSSR

Mitteilungen №№ 67, 68

W. J. Werestschiagina

**Eine bakteriologische Analyse des
Reifungsprozesses des Romadurkäses**

S. B. Panphiloff

**Zur Mikrobiologie der Käse aus
pasteurisierten Milch**

Wologda, 1926

ВОЛОГОДСКИЙ МОЛОЧНО-ХОЗЯЙСТВЕННЫЙ
ИНСТИТУТ

Т Р У Д Ы

В. И. Верещагина

**Бактериологический анализ процесса
созревания сыра ромадур**

С. Б. Панфилов

**К микробиологии сыров
из пастеризованного молока**

„СЕВЕРНЫЙ ПЕЧАТНИК“

ВОЛОГДА

1927

Гублит № 873 (Вологда). _____ Тираж 1000 экз.
Типо-литография Полиграфтреста «Сев. Печатник».

**Бактериологический анализ созре-
вания сыра ромадур**

В. И. Верещагина

Бактериологический анализ процесса созревания сыра ромадур.

(Из работ бактериологической станции ВМХИ).

Ромадур (ремуду, раматур)—сорт сыра, почти неизвестный в СССР. Родина его—Бельгия, провинция Люттих. Много его варят в Германии, особенно в Альгау. На маслодельно-сыроваренном заводе Вологодского Мол.-Хоз. Института его варили в течение нескольких месяцев в 1925 г., в настоящее время варка его оставлена.

Параллельно с бактериологическим исследованием, химического анализа ромадур местной варки не производилось. Несколькими месяцами позднее, когда данная работа была уже закончена, на биохимической станции ВМХИ было проведено химическое исследование процессов созревания разных типов сыра, в том числе и ромадур. В иностранной литературе данных по химическому анализу ромадур почти не имеется; все, что удалось найти, приведено вместе с данным биохимической станции в таблице I (см. таблицу № I, стр. 8).

Степень зрелости сыра по Дюкло, т.-е. отношение растворимого азота к общему количеству азота, для ромадур (лимбург. варки) равна 81,16 (Бондцинский). По данным биохимической станции, степень зрелости—42,49; молочный сахар исчезает полностью на 8—14 день, кислотность почти достигает максимума в первые сутки и держится на одном уровне с небольшими колебаниями до момента полного разложения молочного сахара, после чего довольно быстро падает; к 45 сут. это понижение останавливается на постоянном уровне до конца созревания. Соль достигает центра сыра в первые сутки после посолки (0,1—0,3%), выравнивание концентрации соли по всей головке происходит к 3 неделям.

Хуже обстоит дело с данными по исследованию микрофлоры ромадур. Если для более ходовых сортов сыра еще можно найти более или менее подробные данные бактериологических

Таблица I.
Химический состав ромадура.

Литерат. источники.	Во всем сыре в процентах.									В сухом веществе без соли в процентах.					Примечание.	
	Воды.	Сух. в.	Жира.	Белк.	Азо- та.	Соли.	Мол. сахара.	Мол. кислоты	Золы.	Жира.	Белк.	Азо- та.	Мол. сахара.	Мол. кислоты		Золы.
König . . .	49,65	50,35	20,6	22,78	—	—	0,4	—	6,5	41,30	45,24	7,24	—	—	—	
Eugling-Weig- mann . . .	49,56	50,44	22,1	—	—	—	—	—	—	44,48	—	—	—	—	—	
Биохим. стан- ция ВМХИ .	58,5	41,5	17,2	20,13	3,15	—	0,88	1,86	—	41,51	48,48	7,58	2,12	3,77	5,0	Сыр суточ- ный.
	55,7	44,3	17,3	20,11	3,14	2,97	—	0,15	—	41,53	48,58	7,60	—	0,35	5,15	Зре- лый.

анализов, то для таких редких сортов, как ромадур (вызревший, не говоря уж об отдельных моментах созревания), в литературе остается «пустое» место. Таким образом, в отношении ромадура данная работа является как бы первой разведкой, и данные, полученные мною в результате исследования микрофлоры всего периода созревания, следует считать лишь первыми вехами, указывающими направление, по которому течет этот процесс, отнюдь не претендующими на выяснение всех его деталей.

Мною прослежена всего одна варка ромадура от момента заквашивания молока до полного созревания сыра. Понятно, для того, чтобы полностью осветить вопрос, нужно провести целый ряд подобных анализов, шаг за шагом оттеняя отдельные моменты процесса. Выявляя роль микрофлоры в созревании сыра, необходимо проследить действие различных факторов (посолка, нарастание кислотности в результате распада молочного сахара, степень распада белков, и т. п.), принимающих в той или иной мере участие в созревании, а для этой цели провести параллельно химическое и бактериологическое исследование.

Станцией бактериологии ВМХИ проводятся работы по исследованию различных сортов сыра (бакштейн, камамбер, голландский и др.) в процессе созревания. В связи с этим возник интерес и к изучению ромадура, относящегося к типу полумягких сыров и занимающего среднее место между бакштейном—с одной стороны и камамбером—с другой, что и подтвердилось данными моего анализа. Исследование было проведено мною по общему плану, принятому для подобных работ на станции бактериологии ВМХИ. Для своей работы я воспользовалась варкой ромадура на маслод.-сыров. заводе ВМХИ, произведенной группой студентов 19 марта 1925 г. Данные варки приведены в таблице II:

Таблица II.
Данные варки исследуемого сыра.

Количество молока	50 кгр.	Обработка ковшами	28 м.
Количество обраты	50 кгр.	Разливание в формы	8 м
Кислотность молока	22°Т	Число сыров	20
Температура заквашив.	34°С	Температура сыроварни.	16°С
Крепость закваски	80	» солильни	11°С
Продолжит. сквашив.	46 м.	» подвала	15—16С
Продолж. разрез. ножом	4 м.	Влажность воздуха в под-	
Продолж. отстаивания по-		вале	92°
сле разрез. ножом	10 м.		

Обработка калье производилась осторожным вымешиванием металлическими ковшами. Зерно получилось не вполне однородное; наряду с нормальными зернами размером с лесной орех было порядочно мелочи. Посредством ведра зерно было перенесено в прямоугольные деревянные формы размером 77×19 см. с отверстиями. Каждая форма рассчитана на 50 кгр. молока. В формах сырная масса была накрыта свободно входящей доской и оставлена в покое на 30 мин. Далее массу, уже достаточно слипшуюся, разрезали на 5 квадратных кусков, вдвигая жестяную пластинку по желобкам, вырезанным в боковых стенках формы. Опрокидыванием ящика куски были вынуты из формы и зажаты на особом столе в раме, отделенные друг от друга дощечками. Зажимание имеет целью сохранить форму, так как куски, выделяя сыворотку, неравномерно сокращаются в объеме. На зажимальном столе куски оставались около 1 суток. За это время их пять раз переворачивали и по мере уплотнения сырной массы сближали доски. После квадратные куски были разрезаны еще пополам на бруски с квадратным поперечным сечением размером в среднем $15 \times 7,5 \times 7,5$ см. Посолка натиранием сухой солью производилась два дня. Первый день солили четыре стороны, второй—две остальные. В соляльне сыр оставался трое суток, потом его перенесли в подвал, где за ним был обычный уход—переворачивание и перетирание смоченной в воде тряпочкой(сначала ежедневно, потом реже).

Сырки получились не вполне однородные по размерам; возможно, что и посолка была не совсем равномерной. Через несколько суток одни сырки наощупь были заметно тверже, другие—мягче; были и такие, которые к 20 суткам начали расплываться, т.-е. дали трещины, из которых текла однородная сметановидная масса; растекающийся слой образовался под коркой на глубине $1-1\frac{1}{2}$ см. и был толщиной $1\frac{1}{2}-2$ см. Середина таких сырков выглядела нормально. Из одного такого сырка 30-дневного возраста была взята мною проба расплывшегося слоя (корка и середина были взяты из другой головки) и произведен анализ (см. табл. III), на основании результатов которого приходится считать, что тут, очевидно, влияли только физико-химические факторы, так как чего-либо особенного в микрофлоре расплывшегося слоя мне обнаружить не удалось.

Для анализов я выбирала сырки более твердые, лучше других сохранившие свою первоначальную форму. Для каждого

анализа бралась новая головка, только в двух случаях было взято по две пробы из одного сырка (в последовательные сроки).

Нельзя поручиться, что данная варка и процесс созревания были вполне типичны для ромадура (неравномерность зерна, разница в размерах и консистенции сырков), но все же, в общем, по полученным результатам, можно считать исследованный сыр близким к нормальному ромадуру. Неоднородность сырков, несомненно, оказала влияние на результаты анализа в том отношении, что не всегда наблюдается последовательность и постепенность перехода между смежными анализами, но в общих чертах картина изменений микрофлоры довольно ясна.

Как было уже упомянуто, анализ я начала с молока, взяв пробу его из котла перед заквашиванием, пробу сыворотки—тоже из котла перед началом разливания в формы, пробу зерна—из ведра во время разливания в формы. Суточный сыр был взят в сыроварне до посолки, трехсуточный—в соляильне после окончания посолки, начиная с пятисуточного—в подвале, при чем с этого момента отдельно исследовались корковый слой и середина. Перед взятием пробы участок корки прижигался, и из вырезанного пробником сырного стержня брался срединный слой (около 1½ гр.) и корковый (около 1 гр.)—на глубине 1½—2 мм. от поверхности. Во избежание случайных загрязнений, верхний слой корки не брался. Для проведения анализа я брала навеску сыра (для корки—0,5 гр., для середины—1 гр.) и приготавливала из нее эмульсию со 100 куб. см. стерильной воды. Из полученной эмульсии делала дальнейшие разведения. Для производства всех этих операций я пользовалась методикой, принятой для подобных анализов на бактериологической станции ВМХИ. Описание приемов анализа имеется в работе проф. С. А. Королева: «Микрофлора процесса созревания русского бакштейна» («Труды Вол. Мол.-Хоз. Ин-та», том II, выпуск 4).

В своей работе я применяла след. среды: мясо-пептонный агар, такая же желатина и стерильный обрат. Все посева выращивались в термостате при 30°C, исключая посевов на чашках с желатиной, которые оставались при комнатной температуре. Количественный учет всей микрофлоры производился на чашках с агаром, чашки с желатиной служили для учета не молочно-кислых, а главным образом для учета разжижающих форм; молочно-кислые бактерии учитывались при посеве в обрат. Качественное обследование проводилось таким путем: на

чашках с агаром и желатиной отмечались однородные по внешнему виду колонии; пробы из этих колоний рассматривались под микроскопом (чаще без окраски); учитывалось, какие из встречающихся форм преобладают; в отдельных случаях делались пересевы в обрат с целью определить, свертывает ли данный вид молоко и какую дает кислотность. При исследовании препаратов из свернувшегося обрата, в некоторых случаях делались пересевы на агар, для того, чтобы выделить какой-либо вид (меня интересовали главным образом различные виды м.-к. палочек). Но следует отметить, что при подобных пересевах некоторые виды, встречающиеся в оброте, на агаре не прорастали, или, может быть, давали такие инволюционные формы, что их нельзя было определить при беглом обзоре.

В результате обработки сырого материала, добытого при отдельных анализах, получена общая картина микрофлоры сыра в процессе созревания (таблица III). См. таблицы стр. 13 и 14.

Цифры первого столбца таблицы III, указывающие общее число микроорганизмов в 1 гр. сыре в тысячах (см. также диаграмму), являются средними арифметическими, полученными при подсчетах колоний на чашках с агаром при различных (2—3) степенях разведения. На основании этих цифр можно сделать след. выводы:

1. В процессе варки число бактерий сильно возрастает.

2. Зерно значительно богаче бактериями, чем сыворотка.

3. В течение нескольких суток после варки продолжается нарастание общего числа микроорганизмов, позже—постепенное падение до конца созревания.

4. Процесс развития микрофлоры идет довольно равномерно по всей головке сыра.

К концу варки (заявшей со всеми манипуляциями около двух часов) в сыворотке находим почти такое же количество бактерий, как во взятом для варки молоке, в зерне—в 17 раз больше (в 1 гр.). В дальнейшем такой быстроты размножения, какая отмечена во время варки, наблюдать не приходилось; темп размножения сильно замедляется (за первые сутки возрастание всего в шесть раз). Максимум числа микробов падает на третьи сутки (м. б., вторые?), держится на том же уровне

Таблица III.

Общие данные по изменению микрофлоры ромадура в процессе созревания.

(Цифры столбцов 1, 2, 3—в тысячах на 1 гр.)

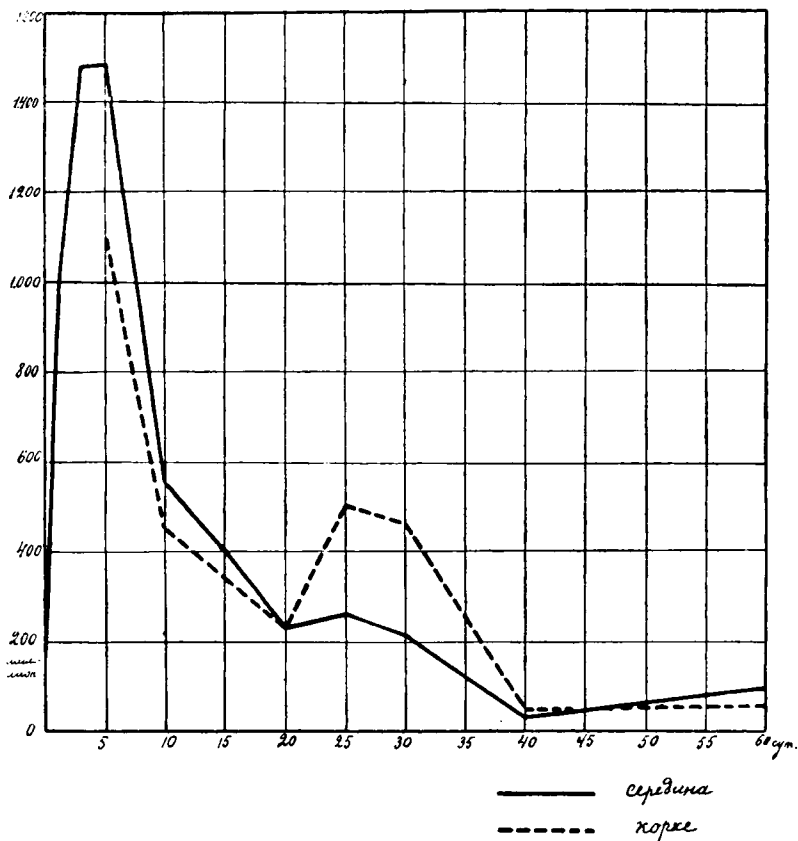
	Момент взятия пробы.	Слой.	1 Общее число микроор- ганизмов в 1 гр.	2 Пределы чисел молочно-кислых бактерий.	3 Пределы чисел молочно-кислых палочек.	4 % м.-к. бактерий (всех).	5 % м.-к. палочек от общего числа мол.-кисл.	6 % колон. к типу мол.- кисл.	7 % колон. разжиж- желатину
1	Молоко из котла . . .		9160	—	—	—	—	—	0,7
2	Сыворотка		6246	5000— 10000	—	около 100	—	—	0,4
3	Зерно		159200	—	—	—	—	—	1,5
4	Сыр 1 суток		988000	—	—	—	—	—	2,1
5	» 3 »		1466200	1000000—5000000	—	» 100	—	0,3	0,0
6	» 5 »	середина	1476200	1000000—5000000	—	» 100	—	0,7	0,0
		корка	1111160	500000—1000000	1000— 5000	» 75	0,4	0,1	0,0
7	» 10 »	середина	578760	1000000—5000000	50000— 100000	» 100	2,5	0,7	0,1
		корка	448700	500000—1000000	10000— 50000	» 100	4,0	0,1	0,2
8	» 15 »	середина	404000	100000— 500000	100000— 500000	» 75	100	0,3	0,0
		корка	—	100000— 500000	10000— 50000	—	10	—	—
9	» 20 »	середина	231300	500000—1000000	500000—1000000	» 100	100	4,4	4,3
		корка	232200	50000— 100000	50000— 100000	» 32	100	?	?
10	» 5 »	середина	270000	100000— 500000	100000— 500000	» 100	100	0,5	0,2
		корка	501500	100000— 500000	100000— 500000	» 60	100	0,7	0,4
		середина	211200	100000— 500000	100000— 500000	» 100	100	0,0	0,0
11	» 30 »	корка	469000	100000— 500000	100000— 500000	» 66	100	0,3	0,0
		расп.слой	485700	100000— 500000	100000— 500000	» 62	100	0,7	0,7
12	» 45 »	середина	27500	50000— 100000	50000— 100000	» 100	100	0,1	0,1
		корка	39300	50000— 100000	50000— 100000	» 100	100	0,1	0,1
13	» 60 »	середина	94350	100000— 500000	100000— 500000	» 100	100	0,1	0,1
		корка	62100	50000— 100000	50000— 100000	» 100	100	0,3	0,1

Дополнение к таблице III.
Некоторые наблюдения органолептического характера.

Молоко	сборное, крестьянское.
Сыр 1 сут.	Проба—однородная масса, выделяющая значительное количество сыворотки.
» 3 »	Заметно образование глазков размером с булавочную головку, с ровными краями. Запах приятный, ароматический. Вкус—заметна горечь, соль не чувствуется.
» 5 »	Глазки увеличились количественно и приобрели неровность очертаний. Сыворотки выделялось немного. Ароматический запах сохранился (напом. ваниль). Вкус горько-соленый.
» 10 »	Глазки немного крупнее по размерам, по направлению к середине их больше. Ароматический запах исчез, сырного еще не слышно. Вкус горько-соленый. Поверхность сыра слегка пожелтела и начала покрываться слизью.
» 15 »	Проба не выделяла сыворотки и приобрела слегка мажущуюся консистенцию, легче растиралась в ступке. У глазков рваные края. Вкус—ясно соленый, горечь слабо выражена.
» 20 »	Корка ясно обозначена. Запах творожисто-сырный. Горечь еще заметна. Очень сильно посолен.
» 25 »	Слабый сырный запах. Горечь чуть заметна. Соль не так резко чувствуется. Суховат; на вкус—ощущение зернистости.

до 5 суток, потом довольно резко падает; к 10 сут. количество бактерий в 2,5 раза меньше максимума, к 20 сут.—в семь раз, достигая цифры двести миллионов; то же число мы находим и в 30-суточном сыре; через 45—60 суток остается всего несколько десятков миллионов. На этом процесс созревания и заканчивается, так как двухмесячный сыр был уже вполне зрелым.

Изменение общего количества микроорганизмов в середине и корке сыра ромадур при его созревании.



Сравнивая между собой данные для середины и корки, видим, что корка по общему числу микроорганизмов вначале немного отстает (влияние посолки?), потом около 15—20 суток догоняет середину и во второй половине процесса даже берет некоторый перевес; общее количество молочно-кислых в корке

временами ниже, но в общем большой разницы между слоями нет, процессы идут параллельно, время расцвета и время упадка микрофлоры совпадают.

Если сравнить данные для ромадур с соответствующими данными для бакштейна и камамбера, то заметим следующее: для последних двух сыров вершина подъема выше: в бакштейне— до 8,8 миллиардов, в камамбере разных варок колебания от 1,2—6,5 миллиардов. Казалось бы, что чем мягче сыр, тем более благоприятную почву должны находить бактерии, так как при наличии большего количества оставшейся сыворотки они лучше обеспечены питательным материалом. Но в действительности этот фактор не является решающим, и совпадения между мягкостью варки и общим числом микроорганизмов не наблюдается. Голландский сыр, относящийся к твердым сортам, по данным бактер. станции ВМХИ, имеет максимум около двух миллиардов. Но допустимо и предположение, что высшая точка подъема для ромадур не была мною найдена: на вторые или даже четвертые (последнее менее вероятно) сутки, для которых данных не имеется, могла быть достигнута вершина подъема. Возможно и другое объяснение этого факта: в камамбере наибольшее число микробов наблюдается до посолки; в бакштейне пробы, давшие максимум числа бактерий, тоже не содержали соли, так как соль проникает в срединные слои (в десятых долях процента) только к 10 суткам, в ромадуре—уже через сутки после посолки соль проникает к центру (0,1—0,3%), и хотя количество бактерий после первых суток несколько возрастает, но соль, которая, как известно, задерживает развитие большинства бактерий, могла оказать отрицательное влияние на высоту подъема. Влиянием соли можно объяснить и более сильную разницу между коркой и серединой в бакштейне, так как концентрация соли во всей головке в нем выравнивается значительно позже (к 1½ месяцам), и корка, содержащая больший процент соли, по общему числу микроорганизмов в течение первого месяца отстает от середины, догоняя ее лишь между 35—50 сутками. Следовательно, выравнивание числа микробов и выравнивание концентрации соли по всей головке происходит в один и тот же промежуток времени, и первое, очевидно, есть функция второго. Кривая общего числа микробов для бакштейна более медленно и постепенно падает, чем для ромадур, имеющего более короткий период вызревания.

С камамбером сближает ромадур крутизна подъема и падения этой кривой, а также вторичный расцвет микрофлоры, сопровождаемый усиленным размножением молочно-кислых палочек, которые не только в относительных числах берут перевес над *Streptococcus lactis*, находящимся к тому времени в стадии постепенного вымирания, но и абсолютное число их возрастает. Особенно резко проявляется второй максимум в корковом слое у обоих сыров, у ромадур вообще слабее и позже, чем у камамбера (в первом сыре—к 20 сут., во втором—к 9—10 сут.), но в том и другом случае после того, как молочный сахар нацело разложился. В камамбере вторичный подъем кривой происходит в то время, когда плесени достигли максимального развития, и объяснение этого факта вспучивания кривой ставится в зависимость от симбиотического действия плесеней и мол.-кислых палочек. Для ромадур, вызревающего без участия плесеней, причина кроется в чем-то другом. Возможно, что на корке поселяются какие-либо виды щелочеобразующих бактерий, которые, нейтрализуя кислоту, стимулируют развитие м.-к. палочек. В пользу этой гипотезы говорит то обстоятельство, что м.-к. палочка, как факультативный анаэроб, предпочитает анаэробные условия, в данном же случае подъем кривой гораздо выше в корке, следовательно, в верхнем слое имеются какие-то привходящие благоприятные условия для развития *Bact. casei*. Как и всякая гипотеза, высказанное выше предположение, конечно, нуждается в проверке при следующих анализах.

Вернемся еще раз к таблице III. Цифры столбцов 2 и 3 получены при исследовании посевов в стерильный обрат. Пределы чисел всех молочно-кислых бактерий (столб. 2) найдены при учете свернувшихся пробирок с обратом. Каким путем вычисляются эти пределы, изложено в упомянутой выше работе проф. С. А. Королева (стр. 114). Пределы чисел мол.-кислых палочек типа *Bact. casei* (столб. 3) выведены на основании результатов, полученных при титровании обрата и наблюдении мазков под микроскопом. Мы принимали, что пробирки с обратом, давшие кислотность выше 125° T (предельная кислотность получена 190° T), при одновременном нахождении в препаратах палочек, содержат микробов типа *B. casei*.

Процент всех молочно-кислых (столб. 4) получен таким путем: брали арифметическое среднее из двух пределов—верхнего и нижнего (столб. 2)—и условно вычисляли % по отношению

к общему числу микроорганизмов в (столб. 1). Взяв отношения средних арифметических верхних и нижних пределов столбцов 2 и 3 вычислили % молочно-кислых палочек (столб. 5) от общего количества мол.-кислых.

Колонии, заведомо не принадлежащие к типу молочно-кислых, подсчитывались общим числом на чашках с желатиной (иногда и на агаре), при чем отдельный учет велся видам, разжижающим желатину. Процент тех и других (столб. 6 и 7) вычислен в отношении к общему числу микроорганизмов.

Из сопоставления цифр могут быть сделаны дальнейшие выводы:

5. В ромадуре, как и в других сырах, исследованных на бактер. станции ВМХИ, молочно-кислые бактерии господствуют в течение всего периода созревания.

6. Из группы молочно-кислых в начале процесса преобладает *Streptococcus lactis*, во второй половине—мол.-кисл. палочки типа *B. casei*.

7. Остальная микрофлора численно заметной роли не играет.

Уже в начале анализа в молоке, сыворотке и зерне отмечено преобладание молочно-кислых бактерий типа *Str. lactis*. На чашках с агаром на фоне мелких, иногда почти пылеобразных колоний, встречались крупные колонии, главным образом, микрококков, но число их даже в наиболее слабых (первых) разведениях не превышало нескольких (немногих) десятков на чашку, при общем числе бактерий от нескольких тысяч до десятков тысяч на чашку. В последних разведениях микрококки встречались единично. Чашки с желатиной дают приблизительно такую же картину: разжижающих колоний не более нескольких десятков на чашку в слабых разведениях, столько же не молочно-кислых, не разжижающих и в громадном большинстве молочно-кислые бактерии. В последних разведениях разжижающие иногда отсутствуют.

В сыре число колоний микрококков еще меньше, мол.-кислые неизменно господствуют, на некоторых чашках составляя почти все 100%. Из господствующей группы молочно-кислых, тип *Streptococcus lactis* преобладает в начале процесса; с появлением на сцену мол.-кислых палочек типа *Bact. casei*, стрептококк отходит постепенно на второй план, и во второй половине

процесса созревания тип *Bact. casei* господствует. *Streptococcus lactis* все же окончательно не вымирает в сыре, колонии его встречаются на каждой чашке до конца созревания.

Сопоставляя данные для корки и середины, видим, что в середине м.-к. палочки несколько раньше начинают преобладать (к 15 суткам, в корке—к 20 суткам), но, как уже отмечалось выше, в корке во второй половине процесса наблюдался подъем общего числа микроорганизмов, который произошел главным образом за счет абсолютного увеличения количества м.-к. палочек.

Из группы не молочно-кислых, кроме упомянутых выше микрококков, встречались в небольшом количестве, но почти постоянно, различные виды сарцин, единично—колонии подвижных и неподвижных палочек. В первых анализах, начиная с молока, довольно часто, но в небольшом количестве, попадались представители газообразующих типа *Bact. coli-aërogenes*, но они довольно быстро ушли со сцены. В общем все виды микроорганизмов, кроме молочно-кислых, малочисленны и непостоянны, в большинстве, несомненно, случайны. Большинство посторонних присутствовало в первой стадии созревания, позже они встречаются значительно реже.

Виды, разжижающие желатину, так же редки и случайны, число их колеблется в пределах 1%, редко его превышая. Случайность их подтверждается и тем фактом, что довольно часто число их, в различных разведениях одного анализа, изменялось не пропорционально общему числу бактерий, т.-е. в последних разведениях разжижающих колоний было больше, чем в первых. Среди разжижающих форм чаще встречались микрококки, в слабой степени разжижающие желатину; сарцины, единично—подвижные палочки (иногда споровые). В отношении посторонних (не молочно-кислых) микроорганизмов наблюдалась общность картины с другими исследованными сырами—бакштейном, камамбером и др. Разжижающие формы и там слабо представлены; незначительна и остальная микрофлора.

Признание факта господства группы мол.-кислых, конечно, еще не решает вопроса, какие виды микроорганизмов являются главными деятелями в процессе созревания сыра. В дальнейших исследованиях на господствующую группу молочно-кислых необходимо обратить сугубое внимание и ее детализировать. В моей работе подразделение молочно-кислых бактерий на типы было

сделано лишь в самых общих чертах—на стрептококков и палочек, но не проведены подразделения внутри этих типов. При анализах мне приходилось наблюдать м.-к. палочки различного вида и по форме колоний, и по форме клеток; встречались, например, палочки толстые с тупыми концами, членистые палочки, тонкие зернистые палочки, напоминавшие по внешнему виду палочки, выделенные Freudenberg'ом из эмменталя и Будиновым—из русско-швейцарского сыра; встречались мохнатые колонии, напоминавшие колонии болгарской палочки. Но в данном анализе, в силу объективных условий, мне пришлось ограничиться поверхностным качественным обследованием.

Хотя процесс созревания сыра с микробиологической стороны, благодаря своей сложности, является еще далеко не разрешенной проблемой, но уже по одному тому материалу, которым располагает бактериол. станция ВМХИ, можно наметить некоторые моменты, которые являются характерными для большинства сыров. Смена фаз (*Streptococcus lactis*—*Bact. casei*)—один из таких моментов, пожалуй, даже решающих моментов. Время первого появления палочек еще ничего не говорит о той роли, которую они займут в дальнейшем, но момент смены микрофлоры указывает почти безошибочно, с каким типом сыра (твердым—мягким) мы имеем дело. В бакшгейне присутствие палочек отмечено уже в молоке и потом, начиная с односуточного сыра, они постоянно встречаются, но количество их все время держится в пределе 1%, и только с 85-суточного сыра они преобладают. В ромадуре мол.-кисл. палочки начинают господствовать в сыре с 25-суточного возраста, в камамбере—с 9—10-суточного. Отсюда вывод; в мягких сырах преобладание палочек наблюдается значительно раньше, и оно сопровождается усиленным их развитием, вызывая второй максимум. В сырах полутвердых и большинстве твердых они берут верх в самом конце, когда процесс созревания в целом уже закончен, и относительное преобладание мол.-кислых палочек в этих сырах не сопровождается, как-будто, усиленным их развитием, а скорее является результатом вымирания бактерий типа *Streptococcus lactis*.

Бюллетень № 68

К микробиологии сыров из пастеризованного молока

С. Б. Панфилов

К микробиологии сыров из пастеризованного молока.

(Из работ бактериологической опытной станции ВМХИ).

В специальной литературе последних лет довольно много внимания уделяется производству сыра из пастеризованного молока. Этот способ получил широкое применение в практике. Дания, Голландия, Новая Зеландия и Канада ведут производство сыра из пастеризованного молока в довольно большом масштабе. Так, Новая Зеландия и Канада выбросили на английский рынок сыра чеддера, изготовленного из пастеризованного молока:

в 1913 г. 27.600.000 кгр.

» 1924 » 74.250.000 »

Производством сыра из пастеризованного молока заинтересованы и опытные станции по молочному делу, и ими поставлен целый ряд опытов для его разработки, хотя надо заметить, что эти опыты в большинстве случаев пока носят чисто практический характер без научного обоснования путем бактериологического и химического исследования.

Введение и распространение этого приема обусловливается двумя причинами: с одной стороны—стремлением устранить многообразные пороки сыра, причиняющие огромный материальный ущерб производству и обязанные своим происхождением по преимуществу неблагоприятной микрофлоре молока, идущего на приготовление сыра; с другой стороны—стремлением производить продукты, вполне доброкачественные в санитарно-гигиеническом отношении.

Применение этого способа основано на знании двух фактов:

1. Пастеризация убивает большую часть (до 99,9%) микрофлоры молока, в том числе патогенных микробов и возбудителей многих пороков сыра.
2. Молочно-кислые бактерии играют главную роль в процессах созревания сыра.

Применением пастеризации мы освобождаем молоко от неблагоприятной для сыра микрофлоры, но так как пастеризацией мы лишаем молоко и нужной для созревания сыра микрофлоры, то для замены ее и вводятся культуры молочно-кислых бактерий. Применение чистых культур молочно-кислых бактерий в сыроделии при варке сыра из сырого молока, в качестве средства в борьбе с пороками, практиковавшееся и раньше, в настоящее время горячо рекомендуется и широко распространяется. В этом отношении практика шла впереди теории так же, как и в отношении производства сыра из пастеризованного молока. В Голландии издавна употреблялась при варке эдамского сыра особая тягучая закваска (*Lange Wei*), содержащая культуру слизистых молочно-кислых бактерий (*Strept. hollandicus*).

При варке чеддера внесение чистых культур молочно-кислых бактерий является необходимым техническим приемом. Неудивительно, что одним из первых сыров из пастеризованного молока был именно чеддер, производство которого этим способом в настоящее время достаточно укрепилось. То же самое можно сказать и относительно мягких сыров. При нормальном приготовлении их, внесение чистых культур м.-к. бактерий является желательным; и здесь тоже применение пастеризации началось уже давно (опыты французского бактериолога *Mazé* в 1905 г.).

В вопросе о производстве сыра из пастеризованного молока имеются три стороны, которые должны быть разрешены:

1. Вопрос экономический—вопрос о выгодности того и другого способа. Цифровые данные по этому вопросу в литературе ¹²⁾ имеются по производству чеддера; как эти данные, так и самый факт широкого распространения этого способа производства говорят за то, что в отношении чеддера этот вопрос, по-видимому, разрешен удовлетворительно. В отношении других сыров эти расчеты не произведены.

2. Вопросы технические, вытекающие из того, что при пастеризации изменяются физико-химические свойства молока, а вследствие этого изменяется способность сквашивания молока сычужным ферментом, способность зерна выделять сыворотку, а это в свою очередь ставит вопрос о количестве прибавляемого сычуга, времени свертывания, обработке и т. д. В этом отношении известны довольно многочисленные опыты и наблюдения над сырами различных сортов.

Комбинацией температуры пастеризации и изменениями в технике обработки удалось достичь довольно благоприятных результатов в варке различных сортов сыра.

3. Вопросы освещения этого приема производства с микробиологической стороны.

В этом отношении сыры совершенно не изучены. Неудивительно поэтому, что в сырах из пастеризованного молока замечаются такие дефекты, как отсутствие (потеря) характерного, свойственного каждому сорту сыра вкуса и запаха, выравнивающие сыры настолько, что иногда трудно отличить сорт от сорта.

Огульное прибавление культур в молоко для сыра без учета специфичности видов и рас мол.-кисл. бактерий нивелирует все сорта сыра.

Наши знания в области микрофлоры различных сыров пока еще слишком общи и далеки от того, чтобы можно было давать готовые рецепты тех или иных культур или условий, необходимых для созревания того или другого сорта сыра.

Поэтому более тонкое выяснение состава тех заквасок, которые прибавляются к сыру, более специальный подбор их, вообще, более детальная разработка этих вопросов в применении к практике сыроделия и составляет очередную задачу молочно-хозяйственной микробиологии.

Задачи и план работы.

Настоящая наша небольшая работа не стоит в связи с работами, проводимыми по определенному плану бактериологической опытной станцией ВМХИ, по выяснению микрофлоры процессов созревания нормальных сыров. Она произведена совместно со станцией технологии молока ВМХИ (см. ст. А. С. Крылова, «Голландский сыр из пастеризованного молока», в журн. «Молочное Хозяйство», № 13,—1925 г.), при чем идея и планирование работы принадлежат опытной станции технологии молока. Мы свою работу приурочили к некоторым отдельным частям всей работы и спланировали ее в части бактериологического исследования.

Своей задачей она не ставила подробного освещения с микробиологической стороны всех вопросов влияния пастеризации молока на созревание голландского сыра. Она преследовала более узкую цель—выяснить остаточную при пастеризации

молока микрофлору и ее судьбу в сыре. На нее надо смотреть как на первую разведку в этой неисследованной области, и: как таковая, она может иметь некоторое и теоретическое и практическое значение.

Планом работ было намечено в связи с производством бактериологических исследований три опытных варки голландского сыра с изменением температуры пастеризации и продолжительности ее. Эти факторы были выбраны потому, что они главным образом влияют, с одной стороны, на изменение физико-химических свойств молока, а, следовательно, вызывают необходимость изменения и приспособления техники обработки, а с другой—на количественный и качественный состав остаточной микрофлоры.

Здесь уместно будет привести некоторые данные относительно варок (более подробные сведения опубликованы в вышеупомянутой статье А. С. Крылова).

Таблица I.
Данные опытных варок.

		В а р к и.		
		1	2	3
1	Количество молока	96 кгр.	96 кгр.	96 кгр.
2	% жира	3%	3%	3%
3	Кислотность в котле по Тернеру	19 ^o	18 ^o	20 ^o
4	Температура пастеризации	70 ^o С.	65 ^o С.	63 ^o С.
5	Продолжительность пастеризации	20 м.	30 м.	50 м.
6	Количество закваски мол.-кисл. бактер.	1%	1%	1%
7	Время действия закваски до закваши- вания сычугом	1 1/2 ч а с а.		
8	Температура заквашивания	31,5 ^o С.	32 ^o С.	32 ^o С.
9	Продолжительность заквашивания	32 м.	25 м.	30 м.
10	Температура второго подогревания	33 ^o С.	34 ^o С.	34 ^o С.
11	Температура солянки	—	6—7 ^o С	—
12	Температура подвала	—	16—20 ^o С	—
13	Влажность подвала	—	88—90%	—

Примечание. Варка и уход были в общем обычные для голландского сыра.

Из отклонений от обычной варки сыра вследствие случайных технических причин надо указать на более продолжительное выдерживание сыра под прессом—11—14 часов.

Все работы по приготовлению, уходу и наблюдению за сыром велись станцией технологии молока МХИ.

Оценка сыра. Сыры по внешнему виду нормальные, внутри слепые. Сыры с пониженной температурой пастеризации

(63°—65°C.) обладали более связным эластичным тестом и хорошей маслянистой консистенцией, имели нежный и приятный вкус, напоминающий швейцарский сыр (сладковатость и своеобразная острота), созрели через три месяца.

Сыры с более высокой температурой пастеризации (70°) имели более крошливое тесто, менее приятное на вкус; для созревания потребовалось больше времени—четыре месяца.

В части бактериологического исследования были намечены следующие пробы:

1. Молоко до пастеризации.
2. Молоко непосредственно после пастеризации.

Эти пробы взяты для учета действия пастеризации на микрофлору молока.

3. Молоко из котла через 1¹/₂ часа после заражения культурой молочно-кислых бактерий перед заквашиванием сычугом.

4. Сыр 7-суточный.

5. » 30 »

6. » 60 »

7. » 90 »

Планом работ намечалось, в целях более широкого охвата всех стадий процесса созревания сыра, взятие пробы сыра перед посолкой, но вследствие неудачного выбора соответствующих разведений пришлось ее исключить. Это в значительной степени создало затруднения в получении полной картины процесса созревания сыра, так как выпущенные моменты относятся к периоду наиболее быстрого изменения микрофлоры.

Методика исследования.

Взятие проб молока. Пробы молока брались стерильной пипеткой в 1 к. см. непосредственно из ушатики и котла в колбу со 100 к. см. стерильной воды; отсюда делались требуемые разведения.

Пробы сыра. По плану было намечено исследование только срединного слоя сыра. Для удаления микрофлоры с поверхности сыра, горячим ножом прижигался небольшой участок. Непосредственно после этого фламбированным, еще довольно горячим сырным шупом (пробником), чтобы не внести внутрь посторонней микрофлоры, главным образом плесеней, вынимался столбик из середины сыра, и небольшой кусок его отрезался фламбированным шпателем в стерильную чашку Петри. Отсюда бралась

навеска в 1 гр. Взятие навески, получение эмульсии и разведений производились по методике, принятой на бактериологической станции МХИ и описанной в работе проф. С. А. Королева, «Химико-бактериологическое исследование процесса созревания русского бакштейна» («Труды ВМХИ», т. II, вып. 4).

Все дальнейшие пробы брались не из одного и того же сыра. Это обстоятельство могло служить причиной колебаний в количественном составе микрофлоры, хотя, вероятно, и незначительных.

Питательными средами служили:

для общего учета бактерий—мясо-пептонный агар;

и для учета молочно-кислых бактерий—молоко.

Посев в молоко производился по методу разжижения, при чем бралось по две пробирки от каждого разведения.

Надо заметить, что мясо-пептонный агар был приготовлен на экстракте Либиха.

Посевы на чашках Петри и в пробирках с молоком выращивались в термостате при 30° С. Количественный учет производился через двое суток.

После него производилось качественное обследование выросших колоний путем микроскопического просмотра препаратов из них.

От каждого посева брались образцы господствующих элементов микрофлоры и выделялись в виде чистой культуры на мясо-пептонный агар.

Учет молочно-кислых бактерий производился и по посевам на чашках и по молоку, при чем посевы в молоко давали возможность установить предел м.-к. палочек. Титрование молока производилось через неделю.

Результаты исследования.

Температура и продолжительность пастеризации. Первым и весьма важным фактором при приготовлении сыра из пастеризованного молока является температура и продолжительность пастеризации: именно, главным образом высотой температуры и продолжительностью ее действия должен определяться количественный и качественный состав остаточной микрофлоры; в зависимости от температуры же в молоке произойдут различные по силе и степени изменения физико-химических свойств, а это последнее повлечет за собой различную

способность свертывания молока сычугом, выделения сыворотки, а, следовательно, потребует и различных способов обработки, и, наконец, не исключена возможность косвенного влияния характера пастеризации на развитие микрофлоры в сыре.

Теоретически, казалось бы, необходим выбор таких температур, которые, с одной стороны, уничтожали бы патогенных микробов и микробов, вызывающих различные пороки сыра, и с другой — не производили бы резких изменений в составных частях молока.

По первому условию мы имеем целый ряд работ американских и немецких исследователей. Данные американских работ¹⁰⁾ указывают, что при температуре 59° С с продолжительностью 30 мин. патогенные туберкулезные палочки погибают; для верности успеха, во избежание могущих быть колебаний в температуре, американцы рекомендуют применять температуры от 61,7° до 62,2° С Dr. Seelemann¹¹⁾ — на основании своих опытов считает достаточным для уничтожения туберкулезных палочек применения для пастеризации 63°С в течение 30 мин. При этих температурах изменение составных частей молока менее значительно, и не разрушаются витамины. Что касается «высокой» пастеризации, то, согласно опытам, убивающее действие ее на туберкулезные палочки подвергается сомнению, так как при этом способе пастеризации молоко быстро проходит через аппарат и не всегда равномерно прогревается.

В практике к этим соображениям примешиваются вопросы экономические.

Вот почему в практике мы встречаем применение различных температур. Так, напр., в Голландии, в Канаде и отчасти в Дании применяется кратковременная (15 сек.) пастеризация при 95—97° С. В Новой Зеландии при варке чеддера наилучшими температурами пастеризации считаются 71—74° С, так как при других температурах технические результаты получаются менее благоприятные.

Проф. Weigmann и молочный инспектор Tödt⁶⁾, на основании своих многочисленных опытов по варке сыра из пастеризованного молока, считают, что при кратковременной пастеризации при 80—85°С, а также при 95—97°С, как и при продолжительной пастеризации (20—30 мин. при 63°С) получается удовлетворительный сыр. Но вообще применение высоких температур проф. Weigmann не рекомендует и предлагает в тех случаях, когда

это производится, во избежание неблагоприятного воздействия на молоко высоких температур, немедленно и быстро его охлаждать.

До сего времени в оценке условий пастеризации не было сделано попыток к выяснению влияния пастеризации на нормальную микрофлору сыра. В нашем опыте были выбраны низкие температуры пастеризации с различной продолжительностью, а именно:

70° С	в течение	20 мин.
65° С	»	30 »
63° С	»	50 »

Пастеризация велась в ушатиках, поставленных в коробку с горячей водой, при частом перемешивании мутовкой. После пастеризации молоко сразу же было охлаждено до требуемой температуры в холодной воде со льдом. Действие пастеризации видно из таблицы II:

Т а б л и ц а II.

Действие пастеризации на микрофлору молока.

О п ы т ы.		Молоко до пастеризации.		Молоко после пастеризации.		% оставшейся микрофлоры.
		Общее кол. микроб. в 1 к. см.	% мол. кисл. бакт.	Общее кол. микробов в 1 к. см.	% мол. кисл. бакт.	
1	Оп. при 70° С в теч. 20 м.	2116500	ок. 100	13725	6	0,65
2	» при 65° С в теч. 30 м.	2125000	ок. 100	1860	40	0,09
3	» при 63° С в теч. 50 м.	4592000	ок. 65	2400	31	0,05

Таблица ясно показывает, что остаточная микрофлора в общем незначительна, и наиболее губительной для микробов оказалась продолжительная пастеризация при 63° и 65° в течение 50 и 30 м.

Качественный состав остаточной микрофлоры по обследованию посевов на чашках и в молоке можно представить в виде таблицы III.

Таким образом, наиболее стойкими и обильными обитателями пастеризованного при низких температурах молока оказались цветные микрококки. Это мною было замечено и ранее

при обследовании работы пастеризатора «Альфа» Госмолока. Это же отмечается в работе проф. Вейгмана и Вольфа¹⁰⁾.

Таблица III.

Остаточная микрофлора после пастеризации молока.

	t 70° вр. 20 м.	t 65° вр. 30 м.	t 63° вр. 50 м.
По численности 1 место.	Цветные микрококки.		
» » 2 »	Споров. палоч.	Bact. casei	casei.
» » 3 »	Bact. casei	Споровые	палочки.
» » 4 »	—	Strept.	lactis.
» » 5 »	—	Дрожжи и Oid.	lactis.
% мол.-кисл. бакт. по молоку	6%	40%	31%

На втором и третьем местах стоят споровые палочки или палочки типа *Bact. casei*, — в зависимости от температуры и продолжительности пастеризации. На четвертом и пятом местах при более низкой пастеризации стоят *Strept. lactis*, дрожжи, *Oid. lactis* и проч. (при более высокой пастеризации эти элементы отсутствуют).

Более низкая температура пастеризации оставила больший % мол.-кисл. бактерий и более разнообразную микрофлору.

Закваска. Вторым фактором является закваска. Необходимость введения закваски при производстве сыра из пастеризованного молока вполне понятна, так как при пастеризации большая часть (до 99,9%) микрофлоры погибает.

Работами бактериологов (Фрейденрейх, Орла-Иенсен, Бартель, Королев и др.) установлено, что в процессах созревания сыров главная роль принадлежит молочно-кислым бактериям, при чем в большинстве сыров в начале процесса господствуют молочно-кислые бактерии типа *Strept. lactis*, а потом типа *Bact. casei* (в частности по голландскому сыру это подтверждается и нашей еще неопубликованной работой¹⁶⁾).

Желая обеспечить нормальное течение процессов в начале созревания сыра, мы решили ввести в качестве закваски культуру *Str. lactis*. Так как вопрос об участии в созревании сыров

тех или иных рас мол.-кисл. бактерий совершенно еще не выяснен, мы в закваску ввели две расы *Str. lactis*, применяемые на нашей станции при приготовлении закваски для экспортного масла. Эти расы отличались друг от друга только запахом; одна была с хлебным, другая — с слабо-кисловатым. Время свертывания и кислотообразование одинаковы. Время свертывания при заражении петлей (при 30° С.) наступало через 10 час., кислотность — через 18 часов — 110° Т., предельная кислотность — 120° Т. Протеолитическая способность названных рас *Strept. lactis* не была обследована, но, вообще говоря, в обычных условиях она довольно слаба.

Закваска для сыра готовилась следующим образом. Вечером накануне варки сыра стерилизовалось нужное количество обрата и заражалось вышеупомянутыми культурами *Streptococcus lactis*. Свертывание наступало через 10 часов. Кислотность перед употреблением — 90—95° Т. Перед употреблением закваска тщательно размешивалась и вливалась в количестве 1% в котел за 1½ часа до заквашивания сычугом. Чистота закваски контролировалась микроскопическим просмотром препарата. Проф. Вейгман ⁶⁾, исходя из своих опытов, рекомендует прибавление закваски к пастеризованному молоку для приготовления твердых сыров от 1—1,5—2%, в зависимости от кислотности молока.

Таблица IV.

Количественный состав микрофлоры молока в момент прибавления сычуга.

	t ⁰ пастер.—70° время—20 м.	t ⁰ пастер.—65° время—30 м.	t ⁰ пастер.—63° время—50 м.
Число микробов в 1 к. см. через 1½ ч. после заражения чистой культурой.	5000000	4884000	4250000
Качественный состав микрофлоры.	<i>Streptococcus lactis</i> около 100.		

Число микробов практически одинаково во всех трех опытах и согласуется с нормой количества микрофлоры, обычно наблюдаемой нами в молоке при варке сыра.

Теперь перейдем к обсуждению тех данных, которые получились в результате наблюдения за развитием микрофлоры в процессе созревания сыров.

Таблица V.

Изменение микрофлоры при созревании голландского сыра из пастеризованного при 70°C. в течение 20 минут молока.

№ п/п	Моменты взятия проб.	Количество микробов в 1 гр. или 1 к. см.	Пределы чисел молочнокислых бактерий (всех)		Пределы чисел молочнокислых палочек.		% всех мол.-кисл. бактерий.	% мол.-кисл. палочек по отношению к общ. числу мол.-кисл. бакт.
			П о м о л о к у .		П о м о л о к у .			
1	Молоко перед пастеризацией	2116500	5000000— 10000000		—		100	0
2	Молоко после пастеризации	13725	500— 1000		500— 1000		6	100
3	Молоко после 1½ час. выдерживания с закваской мол.-кисл. бактерий перед прибавл. сычуга	5000000	5000000— 10000000		—		100	0
4	Сыр 7-суточный	398000000	10000000— 50000000		1000000 — 5000000		75	1
5	» 30-суточный	94000000	5000000— 10000000		2500000— 5000000		80	50
6	» 60-суточный	57955000	5000000— 10000000		5000000— 10000000		100	100
7	» 90-суточный	10240000	1000000— 5000000		1000000 — 5000000		100	100

Обыт I. Пастеризация молока при 70°C. в течение 20 мин. Данные количественного и качественного изменения микрофлоры при созревании сыра видим из таблицы V:

Из третьего столбца таблицы видно, что наибольшее развитие микрофлоры наблюдается в первое время после приготовления сыра, в данном случае на 7 сутки. Возможно, что фактический максимум приходился раньше, но не был отмечен за отсутствием в это время наблюдений. В дальнейшем идет уменьшение количества микробов.

В общем темпе развития микрофлоры, по сравнению с микрофлорой нормального голландского сыра, замечается значительная депрессия за весь период созревания сыра (основываемся на данных нашей еще неопубликованной работы ¹⁶.)

Количество молочно-кислых бактерий, составляя до 100%⁰/о всей микрофлоры, идет параллельно общему количеству микробов.

Постепенная смена микрофлоры в процессе созревания сыра идет по тому же пути, что и в нормальном голландском сыре, в бакштейне и, повидимому, во всех сырах: в начале процесса преобладают расы *Streptococcus lactis*, а потом—расы *Bacterium casei*. Переходный момент в смене микрофлоры приходится на второй месяц.

Опыт II Пастеризация молока при 65° в течение 30 минут.

По общему характеру изменений микрофлоры сыры этого опыта дают несколько иную картину микробиологических процессов, напоминающую до известной степени картину изменения микрофлоры при созревании русско-швейцарского сыра (Л. Т. Будинов) ¹³). Данные количественного и качественного изменения микрофлоры видны из таблицы VI.

Третий столбец таблицы VI показывает изменение общего количества микробов. Вершина развития микробов как бы отодвигается ближе к месячному возрасту сыра. В дальнейшем идет уменьшение общего количества микробов. Депрессия в развитии микрофлоры здесь еще более заметна, чем в опыте I.

Данные остальных столбцов таблицы показывают, что микрофлора сыра состоит преимущественно из молочно-кислых бактерий, при чем, в отличие от микрофлоры I опыта, молочно-кислые палочки начинают значительно раньше играть более заметную роль. Уже в семисуточном сыре они составляют 50% всей микрофлоры, и в дальнейшем они все время преобладают. Это раннее развитие молочно-кислых палочек характерно для данной варки.

Может быть, этой преобладающей ролью в микрофлоре сыров данного опыта молочно-кислых палочек, — что сближает ее

Таблица VI.

Изменение микрофлоры при созревании сыра из пастеризованного при 65°С в течение 30 минут молока.

№№	Моменты взятия проб.	Количество микробов в 1 гр. или в 1 к. см.	Пределы чисел молочно- кислых бактерий.		Пределы чисел молочно- кислых палочек.		% всех мол.-кисл. бактерий.	Проц. мол.-кисл. палочек по отн. к общ. числу мол.-кисл. бакт.
			П о м о л о к у .					
1	Молоко перед пастеризацией	2125000	1000000—	5000000	50000 —	100000	100	2,5
2	Молоко после пастеризации	1860	500—	1000	500—	1000	40	100
3	Молоко после 1½ час выдерживания мо- лока с закваской мол.-кисл. бакт.	4884000	5000000—	10000000	--		100	0
4	Сыр 7-суточный	13875000	5000000—	10000000	2500000—	5000000	54	50
5	» 30-суточный	245930000	100000000—	500000000	100000000—	500000000	100	50—100
6	» 60-суточный	775 0000	50000000 —	100000000	50000000 —	100000000	98	100
7	» 90-суточный	10020000	5000000 —	10000000	5000000 —	10000000	75	100

с микрофлорой швейцарского сыра, — и можно объяснить те особые вкусовые качества этого сыра, напоминающие вкус швейцарского сыра, которые были отмечены при его дегустации (см. выше).

В связи с этим же, может быть, находится наблюдаемый здесь факт отодвигания вершины в развитии микробов ближе к месячному возрасту, так как молочно-кислые палочки вообще медленнее развиваются, чем *Streptococcus lactis*.

Опыт III. Пастеризация при 63° в течение 50 минут.

Данные количественного и качественного изменений микрофлоры видны из таблицы VII.

Общим характером изменения микрофлоры сыры этой варки сходны с сырами второй, отличаясь очень плавным темпом развития микрофлоры и еще большим подавлением численности микрофлоры, которая количественно даже ниже, чем у швейцарского сыра. Смена *Streptococcus lactis* палочками *Bacterium casei* наблюдается в те же сроки, что и в варке второй. Из сравнения наших немногочисленных данных получается общее впечатление, что заметное влияние на микрофлору, как остаточную, так и введенную в виде закваски в ее развитии в процессе созревания сыра, оказывает как сама по себе пастеризация, так и характер ее.

См. диаграмму стр. 38.

Влияние это сказывается на количественном и качественном составе микрофлоры. По сравнению с нормальным сыром (по данным неопубликованной нашей работы ¹⁶⁾, замечается депрессия в общем количестве микрофлоры во всех опытах, при чем чем ниже температура пастеризации, тем более оказывается понижение общего количества микробов за все время процесса и вместе с тем более раннее появление и преобладание группы *Lact. casei*.

В двух случаях с низкой температурой пастеризации максимум числа микробов совпадает с максимумом молочно-кислых палочек. Как-будто, это можно поставить в связь с остаточной микрофлорой: при этих температурах значительно больше остается молочно-кислых палочек, и, повидимому, они меньше ослабляются при пастеризации.

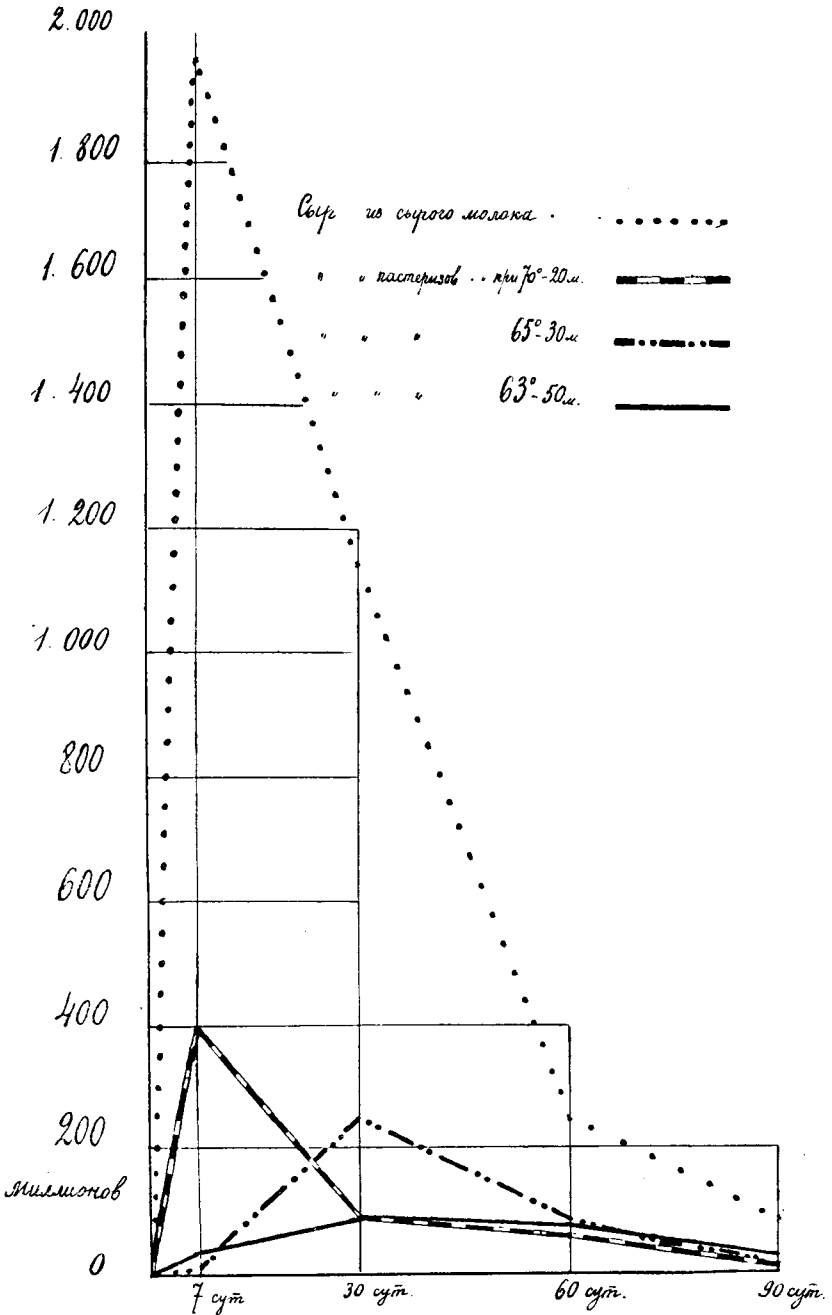
Для всех варок характерно упорное пробивание молочно-кислых палочек сквозь толщу *Streptococcus lactis*, внесенных в

Таблица VII.

Изменение микрофлоры при созревании сыра из пастеризованного (при 63°C—50 мин.) молока.

№№	Моменты взятия проб.	Общее количество микробов в 1 гр. или к. см.	П Р Е Д Е Л Ы.		%, всех мол.-кисл. бактерий.	%, мол.-кисл. палочек по отношению к общему числу мол.-кисл. бакт.
			Мол.-кисл. бакт. (всех).	Молочно-кисл. палочек.		
			П О М О Л О К У.		П о м о л о к у.	
1	Молоко перед пастеризацией.	4592000	1000000— 5000000	--	65	—
2	Молоко после пастеризации.	2400	500— 1000	500— 1000	31	100
3	Молоко после 1½-часовой выдержки с закваской м.-к. бакт. . .	4250000	5000000— 10000000	—	100	—
4	Сыр 7-суточный . . .	37100000	10000000— 50000000	5000000— 25000000	81	50
5	» 30-суточный . . .	92440000	50000000—100000000	25000000— 50000000	81	50
6	» 60-суточный . . .	74000000	50000000—100000000	50000000—100000000	100	100
7	» 90-суточный . . .	24100000	10000000— 50000000	10000000— 50000000	100	100

Изменение микрофлоры при созревании голландского сыра из сырого и пастеризованного молока.



виде закваски, и довольно сильное подавление в развитии *Streptococcus lactis*. По вопросу о совместной работе *Streptococcus lactis* и молочнокислых палочек имеются работы С. А. Северина и С. А. Королева.

С. А. Королев¹⁴⁾, наблюдая взаимодействие *Bact. lactis acidii* (*Strept. lact. J.*) и болгарской палочки в смешанных культурах, заметил, что *Bact. lact. acidii* подавляет развитие болгарской палочки.

С. А. Северин¹⁵⁾, на основании своих многочисленных наблюдений над совместной работой двух микробов—*Streptococcus lactis* и болгарской палочки при приготовлении простокваши по способу проф. Мечникова, замечает, что «совместное сожителство не всегда дает определенный эффект, что, повидимому, здесь протекает очень тонкое и сложное взаимодействие между микробами, устойчивое при известном определенном соотношении многих факторов и быстро выходящее из этого равновесия, раз меняется это соотношение не только при изменении сразу нескольких факторов, но даже при изменении одного какого-либо из них».

Интересно отметить, что скорость созревания сыров не идет параллельно темпу развития микрофлоры вообще, но довольно близко идет с темпом развития молочнокислых палочек: сыры из молока при пастеризации 63° и 65° созрели через три месяца, а другие—через четыре месяца.

Повидимому, пастеризация существенно изменяет условия развития микробов в сыре, направляя его по иному пути. Изменения эти сказываются как на окончательном составе микрофлоры, так и на конечном продукте. Поэтому при приготовлении сыров из пастеризованного молока необходимо обратить большое внимание на обследование влияния пастеризации как на вводимую, так и на остаточную микрофлору.

Состав микрофлоры. Во время исследования было выделено до 30 культур с целью иметь хотя бы беглое знакомство с характером микрофлоры, участвующей в созревании сыра. Детальное изучение по недостатку времени не было выполнено, при чем мы более интересовались расами молочнокислых палочек и выделяли преимущественно их, так как введенные расы *Strept. lactis* были известны. Обследованы были только культуры, растущие на мясо-пептонном агаре; культуры, не растущие на мясо-пептонном агаре, не обследовались.

Все выделенные культуры были обследованы по следующему плану:

1. Рост на мясо-пептонном агаре (форма колоний).
2. Время и характер свертывания молока.
3. Предельная кислотность.
4. Газообразование.
5. Окраска по Граму.

После предварительного исследования оказалось, что большая часть из них более или менее однородна, и потому часть из них была выброшена, а остальные по вышеизложенному плану обследованы, при чем оказалось, что их по кислотообразованию можно подразделить на следующие три группы, что видно из таблицы VIII.

Главнейшие выводы.

1. Пастеризация молока при 70°C в течение 20 мин.; 65°C 30 мин. и 63°C 50 мин. в обыкновенных заводских условиях (нагревание молока в ушатиках) уничтожает до 99,9% всей микрофлоры.

2. В составе остаточной микрофлоры пастеризованного при указанных выше температурах молока довольно видное место (до 40%) занимают молочнокислые бактерии типа *Bact. casei*, которые в сыре при условии пастеризации довольно быстро приобретают численный перевес над введенными в виде закваски *Strept. lactis* и несомненно оказывают заметное влияние на созревание сыра.

3. Пастеризация, повидимому, существенно изменяет условия развития микрофлоры в сыре, что сказывается как в значительной депрессии численного развития всей микрофлоры за весь период созревания сыра, так и на количественном соотношении отдельных групп мол.-кислых бактерий, что, конечно, не может не остаться без влияния как на ход созревания, так и на конечный продукт.

За советы и указания в проведении настоящей работы выражаю глубокую благодарность проф. С. А. Королеву.

Таблица VIII.

Морфологические и физиологические свойства мол.-кисл. палочек, выделенных из сыров из пастеризованного молока.

Группы.	Характер роста колоний на м.-пепт. агаре.	Вид палочек.	Отношение к окраске по Граму.	Газообразование.	Время свертывания молока при 30° и характер сгустка.	Кислотность.	
						При посеве в молоко свежее-выдел. культ. с м.-пепт. агар.	Предельная.
1	Колонии мелкие, типа <i>Str. lactis</i> . Поверхн.—круглые глубин.—чечевицеобразные.	Палочки средн. толщины, иногда зернистые.	+	—	Через 5--6 суток. Свертывание на дне или полное, но сгусток слабый.	70°—80° Т	116° Т
2	Тоже.	Толстые палочки.	+	—	Через 2--3 суток. Свертывание начинается со дна, окончательный сгусток плотный.	100° Т	140° Т
3	Колонии мохнатые, в виде клочков ваты, или угловатые.	Тонкие палочки или в виде длин. извитых нитей, некотор. зернистые	!	—	Через 3 суток. Молоко начинает свертываться со дна, окончательный сгусток получается плотный.	180°—200° Т	212° Т

Литература.

1. Проф. С. А. Королев. Микрофлора процесса созревания русского бакштейна («Труды ВМХИ». Т. II, вып. 4).
2. А. М. Скородумова. Микрофлора процесса созревания камамбера («Труды ВМХИ». Бюлл. 65).
3. А. С. Крылов. Голландский сыр из пастеризованного молока (Журн. «Молочное Хозяйство» 1925 г., № 13).
4. А. С. Крылов. Сыр бакштейн из пастеризованного молока (Журн. «Молочное Хозяйство» за 1925 г., № 3).
5. А. С. Крылов. Сыр из пастеризованного молока (Журн. «Молочное Хозяйство» за 1926 г., № 16).
6. Prof. Weigmann. Käsungsversuche mit dem Tödtschen Apparat («Molkerei-Zeitung», 1923, № 48,46; 1925, № 138).
7. Dr. Dibbern. Käsungsversuche mit dem Tödtschen Apparat («Molkerei-Zeitung», 1925, № 112).
8. Kneuttingen. Zur Frage der Pasteurisierung der Käseremilch («Molkerei-Zeitung», 1926, № 4).
9. Prof. Weigmann und Wolf. Über die Flora der frischen und pasteurisierten Milch einer Vieherde bei Weidegang und Stallhaltung.
10. Prof. O. Rahn. Die Milchpasteurisierung in den Vereinigten Staaten («Molkerei-Zeitung», 1926, № 3).
11. Dr. Seelemann. Vergleichende Untersuchungen über die Abtötung von Tuberkelbazillen in der Milch mit Hilfe neuzeitlicher Dauer und Hoherhitzungsanlagen (Molk.-Zeitung, 1926, № 11).
12. J. L. Sammis et A. T. Bruhn. The Manufacture of Cheddar Cheese from Pasteurised Milk («University of Wisconsin, Agricultural Experiment Station Res. Bulletin», 1922).
13. Л. Т. Будинов. Сравнительное изучение бактериального населения сыров русско-швейцарского и эмментальского («Вестник Бактериолого-Агрономической Станции», № 14).

14. С. А. Королев. О взаимодействии некоторых молочнокислых бактерий при их одновременном развитии в молоке («Вестн. Бакт.-Агрон. Ст.», № 19).
 15. С. А. Северин. Несколько данных и замечаний по поводу так называемого болгарского микроба и молочнокислого препарата «Лактобациллин» («Вестн. Бакт.-Агр. Ст.», № 14).
 16. С. Б. Панфилов и В. И. Верещагина. Микрофлора процесса созревания голландского сыра (Рукопись— готовится к печати).
-

