https://doi.org/10.37442/fme.2025.3.82

# Оценка рисков использования дополнительной газо-ароматообразующей культуры *Leuconostoc* в составе поливидовых бактериальных заквасок для сыроделия

Г.М. Свириденко, Д.С. Мамыкин, О.М. Шухалова

ВНИИМС — филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова», Ярославская область, г. Углич, Российская Федерация

# **Корреспонденция:** Денис Станиславович Мамыкин

E-mail: d.mamykin@fncps.ru

## Конфликт интересов:

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 17.05.2025 **Принята:** 15.09.2025

Опубликована: 30.09.2025

# Финансирование:

Работа сделана в рамках Гос. задания по теме FNEN-2019-0010

Copyright: © 2025 Авторы

# **РИДИТОННА**

**Введение:** Ключевым фактором, определяющим качество сыров, является сбалансированность состава заквасочной микрофлоры, вариабельность соотношения микроорганизмов может существенно влиять на органолептический профиль продукта. Дисбаланс в сторону преобладания лейконостоков над диацетильными лактококками способен провоцировать дефекты: отсутствие рисунка, неконтролируемое газообразование, пороки вкуса. Однако до сих пор не разработаны четкие критерии оптимального соотношения газо- и ароматообразующих микроорганизмов, что затрудняет стандартизацию технологических процессов производства сыров.

**Цель:** Установление влияния варьирования соотношения *Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis* и *Leuconostoc* в составе поливидовой закваски на формирование органолептического профиля полутвердых сыров, и определение зоны оптимальных концентраций, минимизирующей риски возникновения пороков.

**Материалы и методы:** При выполнении исследований объектами являлись моновидовые бактериальные закваски (*Lc. lactis subsp. lactis, Lc. cremoris, Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis, Leuconostoc subsp.*); сыр Голландский после прессования, в процессе созревания и в стадии кондиционной зрелости. Измерение массовой доли общего и водорастворимого белка проводили методом Кьельдаля. Степень протеолиза оценивали по соотношению водорастворимого белка к общему. Молекулярно-массовое распределение растворимых азотистых соединений в водном экстракте определяли методом гель-фильтрации. Определение массовой доли лактозы, галактозы, глюкозы и молочной кислоты проводили при помощи системы капиллярного электрофореза. Вкусо-ароматический профиль сыров определяли по содержанию летучих ароматобразующих веществ в паровой фазе сыра кондиционной зрелости.

**Результаты:** Использование культуры Leuconostoc subsp. замедляет интенсивность гликолиза на этапе выработки и протеолиза в процессе созревания, а также снижает общее количество летучих вкусо-ароматических веществ и их разнообразие в сырах кондиционной зрелости, при этом увеличивает количество низкомолекулярных пептидов и аминокислот в сырах в возрасте 60 суток.

**Выводы:** Установлено, что при внесении культуры Leuconostoc subsp. в состав поливидовой бактериальной концентрированной закваски более 20,0%, появляются риски ухудшения органолептических показателей таких, как недостаточная выраженность сырного вкуса и аромата, мажущаяся консистенция, возникновение гнездовидного рисунка и небольших трещин до 15 мм и, как следствие — снижения сортности сыров на основании общей балльной оценки. Полученные результаты могут применяться биофабриками для научно-обоснованного конструирования поливидовых бактериальных концентрированных заквасок для сыроделия.

**Ключевые слова:** полутвердый сыр, заквасочные культуры, *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar diacetylactis, Leuconostoc*, газо-ароматообразующие заквасочные микроорганизмы, органолептические характеристики



**Для цитирования:** Свириденко, Г.М., Мамыкин, Д.С., & Шухалова, О.М. (2025). Оценка рисков использования дополнительной газо- ароматообразующей культуры Leuconostoc в составе поливидовых бактериальных заквасок для сыроделия. *FOOD METAENGINEERING*, 3(3), 67-84. https://doi.org/10.37442/fme.2025.3.82

https://doi.org/10.37442/fme.2025.3.82

# Risk Assessment of the Use of Additional Gas-Aromatic Culture *Leuconostoc* in the Composition of Multispecies Bacterial Starters for Cheese Making

Galina M. Sviridenko, Denis S. Mamykin, Olga M. Shukhalova

All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking — Branch of V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems, RAS, Uglich, Yaroslavl region, Russian Federation

# Correspondence:

Denis S. Mamykin

E-mail: d.mamykin@fncps.ru

### **Conflict of interest:**

The authors report the absence of a conflict of interest.

**Received:** 17.05.2025 **Accepted:** 15.09.2025 **Published:** 30.09.2025

### **Funding:**

The work was done within the framework of the State assignment on the topic FNEN-2019-0010

**Copyright:** © 2025 The Authors

# **ABSTRACT**

**Introduction:** The key factor determining the quality of cheeses is the balance of the starter microflora composition; the variability of the microorganism ratio can significantly affect the organoleptic profile of the product. An imbalance towards the predominance of leuconostocs over diacetyl lactococci can provoke defects: lack of a pattern, uncontrolled gas formation, taste defects. However, clear criteria for the optimal ratio of gas- and aroma-forming microorganisms have not yet been developed, which complicates the standardization of technological processes for the production of cheeses.

**Purpose:** Establishing the influence of varying the ratio of *Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis* and *Leuconostoc* in the composition of a polyspecies starter culture on the formation of the organoleptic profile of semi-hard cheeses, and determining the zone of optimal concentrations that minimizes the risks of defects.

**Materials and Methods:** The objects of the research were monospecific bacterial starters (*Lc. lactis subsp. lactis, Lc. cremoris, Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis, Leuconostoc subsp.*); Dutch cheese after pressing, during maturation and at the stage of conditioned maturity. The mass fraction of total and water-soluble protein was measured by the Kjeldahl method. The degree of proteolysis was estimated by the ratio of water-soluble protein to total protein. The molecular weight distribution of soluble nitrogen compounds in the aqueous extract was determined by gel filtration. The mass fraction of lactose, galactose, glucose and lactic acid was determined using a capillary electrophoresis system. The flavor profile of cheeses was determined by the content of volatile aroma-forming substances in the vapor phase of cheese of conditioned maturity.

**Results:** The use of *Leuconostoc subsp*. culture slows down the intensity of glycolysis at the production stage and proteolysis during the ripening process, and also reduces the total amount of volatile flavor and aroma substances and their diversity in cheeses of conditioned maturity, while increasing the amount of low-molecular peptides and amino acids in cheeses aged 60 days.

**Conclusion:** It has been established that when introducing Leuconostoc subsp. in the composition of the polyspecies bacterial concentrated starter culture more than 20.0%, there are risks of deterioration of organoleptic indicators such as insufficient expression of cheese taste and aroma, smearing consistency, the appearance of a nest-like pattern and small cracks up to 15 mm and, as a consequence, a decrease in the grade of cheeses based on the overall score. The obtained results can be used by biofactories for scientifically based design of multispecies bacterial concentrated starters for cheese making.

**Keywords:** semi-hard cheese, starter cultures, *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar diacetylactis, Leuconostoc*, gas-aromatic starter microorganisms, organoleptic characteristics



**To cite:** Sviridenko, G.M., Mamykin, D.S., & Shukhalova, O.M. (2025). Risk assessment of the use of additional gas-aromatic culture Leuconostoc in the composition of multispecies bacterial starters for cheese making. *FOOD METAENGINEERING*, *3*(3), 67-84. https://doi.org/10.37442/fme.2025.3.82

# **ВВЕДЕНИЕ**

Внутреннее производство и потребление сыров в России в период с 2020 по 2024 год демонстрирует устойчивую положительную тенденцию (Сурай Н.М. и др. 2024; Решеткина и др., 2023). Как показало исследование покупательских предпочтений, большинство из респондентов при выборе сыра отдают предпочтение полутвердым сырам (Баранова и др., 2021). Одной из групп полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания являются сыры, формуемые из пласта, к ним относятся: Голландский, Гауда, Костромской, Пошехонский, Ярославский, Эстонский, Степной, Маасдам. Наиболее популярным среди населения и производимым в значительных количествах сырам данной группы, но имеющим ряд характерных органолептических особенностей, относится сыр Голландский (Сурай и др., 2024).

Формирование органолептических показателей сыров происходит в результате биотрансформации основных компонентов молока во вкусовые вещества в основном под действием заквасочной микрофлоры (Сорокина и др., 2021; Sadi. et al., 2021). Для производства полутвердых сыров, формуемых из пласта, большое значение для формирования характерного рисунка, представляющего собой глазки правильной формы, равномерно расположенные по площади всего сырного теста, имеет газообразующая активность заквасочных микроорганизмов. Среди основной заквасочной микрофлоры такой способностью обладают лактококки Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis (Garbowska et al., 2020; Fox et al., 2016; Mastrigt et al., 2019).

Основным отличием Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis om других заквасочных лактококков (Lc. cremoris u Lc. lactis subsp. lactis) можно считать способность к образованию в молочной среде диацетила из цитрата (Silva et al., 2023; Al-Hashemi et al., 2024; Kondrotiene et al., 2023). Диацетил является наиболее характерным ароматическим соединением и образуется из цитрата молока, присутствующего как в растворе, так и в мицеллах казеина в качестве казеин-цитратно-кальций-фосфатного комплекса (Wang et al., 2019; Garcia-Quintans et al., 2008). Ферментативное разложение цитратов проходит через оксалоацетат, пируват и α-ацетолактат с высвобождением диоксида углерода (Manno et al., 2018; Fusieger et al., 2020; Kelleher et al., 2017).

Широко изучена и практика совместного использования с лактококками бактерий рода Leuconostoc в качестве дополнительного источника углекислого газа для усиления рисунка, особенно в условиях дефицита цитрата, а также для модификации органолептического профиля (Decadt et al., 2023; Psomas et al., 2023; Laranjo et al., 2022; Kochetkova et al., 2023). Известно, что лейконостоки, будучи гетероферментативными организмами с низкой протеолитической активностью, зависят от лактококков в снабжении пептидами и аминокислотами (Hemme et al., 2012; Pedersen et al., 2013). При этом лейконостоки модифицируют метаболиты, продуцируемые лактококками: регулируют уровень диацетила, снижают концентрацию ацетальдегида и повышают содержание уксусной кислоты и этанола. Таким образом, данные микроорганизмы влияют на процесс вкусо-ароматообразования в полутвердых сырах (Pedersen et al., 2013; Kihal et al., 2007; Endo et al., 2021; Pedersen et al., 2016). Однако в бактериальных заквасках идентичного состава соотношение между отдельными видами микроорганизмов может быть различным, что отражается на специфическом органолептическом профиле сыров (Fusieger et al., 2020; Bourdichon et al., 2012; Свириденко и др., 2023).

Несмотря на обширные данные о физиологии лейконостоков, критической лакуной в знаниях остается отсутствие количественных рекомендаций по оптимальному соотношению газо -ароматообразующих микроорганизмов в составе поливидовых заквасок для полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания. Существующие международные исследования (Mastrigt et al., 2019; Pedersen et al., 2016; Fusieger et al., 2020) носят общий характер и не позволяют прогнозировать последствия варьирования соотношения газо -ароматообразующих микроорганизмов для конкретных технологий. Как следствие, использование заквасок с преобладанием лейконостоков может привести к дефекту рисунка (Sviridenko et al., 2024). Избыточное же содержание газообразующих бактерий в составе закваски может привести к порокам вкуса, запаха и раннему вспучиванию, что указывает на нерешенную технологическую проблему.

Целью данного исследования является установление влияния варьирования соотношения Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis и Leuconostoc в составе поливидовой закваски на формирование органолептического профиля (вкус, аромат, консистенция, рисунок)

полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания, формуемых из пласта, и определение зоны оптимальных концентраций, минимизирующую риски возникновения пороков.

# **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

# Объекты исследования:

- (1) Моновидовые бактериальные концентрированные закваски (Lc. lactis subsp. lactis, Lc. cremoris, Lc. lactis subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Leuconostoc* subsp.);
- (2) комбинации моновидовых бактериальных концентрированных заквасок в составе поливидовых бактериальных концентрированных заквасок;
- (3) производственные закваски;
- (4) сыр Голландский после прессования, в процессе созревания и в стадии кондиционной зрелости.

# Методы

# Микробиологические показатели

Количество мезофильных молочнокислых бактерий определяли методом, основанным на способности мезофильной заквасочной микрофлоры расти на твердой питательной среде<sup>1</sup>.

Количество мезофильных цитратсбраживающих молочнокислых бактерий определяли методом, основанным на способности образовывать зоны просветления на твердой питательной среде с 4-водным цитратом кальция ( $Ca_3(C_6H_5O_7)_2 \cdot 4H_2O_7$ , AO «База №1 Химреактивов»)<sup>2</sup>.

Дифференцирование Leuconostoc subsp. от Lactococcus lactis subsp. lactis biovar diacetylactis было основано на скорости образования зон просветления на твердой питательной среде с 4-водным цитратом кальция. Используемые штаммы Lactococcus lactis subsp. lactis biovar diacetylactis образуют видимые зоны просветления (2–3 мм) на 2 сутки термостатирования, в то время как штаммы Leuconostoc subsp. — на 5 сутки.

# Показатели протеолиза

Измерение массовой доли общего и водорастворимого белка проводили методом Кьельдаля<sup>3</sup> на автоматическом анализаторе азота Automatic Kjeldahl Distillation Unit K9840 (Hanon Advanced Technology Group Co., Ltd., Китай). Степень протеолиза определяли по отношению массовой доли водорастворимого белка к массовой доле общего (формула 2) с использованием метода Кьельдаля⁵.

$$\mathsf{C\Pi} = \frac{\mathsf{M}\mathcal{D}_{\mathsf{B6}}}{\mathsf{M}\mathcal{D}_{\mathsf{o6}}} \cdot 100\,\%,\tag{1}$$

где CП — степень протеолиза, %;

МД, — массовая доля водорастворимого белка, %;

МД<sub>об</sub> — массовая доля общего белка, %.

Молекулярно-массовое распределение растворимых азотистых соединений в водном экстракте определяли методом гель-фильтрации высокого разрешения (Kuchroo et al., 1982) с использованием колонки Superose 12 10/300 GL (GE Healthcare, Швеция).

# Физико-химические показатели

Определение массовой доли лактозы, галактозы, глюкозы и молочной кислоты проводили при помощи системы капиллярного электрофореза серии «Капель — 105М» (Люмэкс-Маркетинг, РФ)4.

Определение активной кислотности сыров выполняли потенциометрическим методом⁵.

# Определение летучих вкусо-ароматических веществ

Вкусо-ароматический профиль сыров определяли по содержанию летучих ароматобразующих веществ в паровой фазе сыра кондиционной зрелости. Качественный анализ вкусо-ароматических веществ в паровой фазе сыра проводили с использованием газового хроматографа «Цвет-800» (ОАО «Цвет», Россия)

ГОСТ 33951–2016 Молоко и молочная продукция. Методы определения молочнокислых микроорганизмов. — Москва: Стандартинформ, 2016. — 15 c.

МР 2.3.2.2327-08 Методические рекомендации по организации производственного микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности. Том I. — Углич: ФГБНУ ВНИИМС, 2015. — 174 с.

Метод Кьельдаля, МВИ ВНИИМС, свидетельство об аттестации № 1-01-16-90

ГОСТ 33527-2015 Молочные и молочные составные продукты для детского питания. Определение массовой доли моно- и дисахаридов с использованием капиллярного электрофореза. Москва: Стандартинформ, 2015.

ГОСТ 32892—2014 Молоко и молочная продукция. Метод измерения активной кислотности. Москва: Стандартинформ.

и устройства для равновесного пара «Фаза» (ОАО «Цвет», Россия)1.

# Органолептическая оценка

Проводилась в соответствии с ГОСТ 33630-2015<sup>2</sup> и с использованием дескрипторно-профильного метода, принимая во внимание степень выраженности основных характеристик вкуса и запаха, и консистенции, оцениваемой по шкале от 0 до 5 баллов.

# Анализ данных

обработку Статистическую полученных и построение графиков проводили с использованием программы «Microsoft Excel». Эксперименты проводили в трех независимых повторностях, данные представлены в форме «среднее значение ± стандартное отклонение». Экспериментальные данные были проанализированы при помощи однофакторного дисперсионного анализа при уровне статистической значимости р = 0,05. Результаты математической обработки выполнены с доверительной вероятностью Р = 0,95.

# Процедура исследования

# Получение поливидовой бактериальной концентрированной закваски

Моновидовые бактериальные концентрированные закваски производили по ранее разработанным в отделе микробиологии ВНИИМС (Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН) технологиям (Мамыкин, 2025) на лабораторном ферментере (биореакторе) BIORUS-GJ-7 (ООО «Био-Рус», Россия) с использованием штаммов заквасочных микроорганизмов с ранее изученными свойствами из промышленной коллекции молочнокислых микроорганизмов ВНИИМС.

Расчет массы каждой моновидовой бактериальной концентрированной закваски для получения поливидовой с заданным соотношением проводился по следующей

$$M_{\text{MGK}} = \frac{x \cdot V_{\text{cM}} \cdot N_{\text{cM}}}{N_{\text{MGK}}},\tag{2}$$

где  $M_{{}_{\mathrm{M}\mathrm{GK}}}$  — масса каждой моновидовой бактериальной концентрированной закваски, г;

x — процентное содержание конкретного вида заквасочного микроорганизма в составе поливидовой бактериальной концентрированной закваске;

 $V_{\rm cm}$  — объем восстановленного обезжиренного молока, используемого для приготовления производственной закваски, см3;

 $N_{_{\scriptscriptstyle{\mathrm{CM}}}}$ — требуемое количество жизнеспособных клеток в восстановленном обезжиренном молоке после заквашивания;

 $N_{_{
m M6K}}$  — количество жизнеспособных клеток в моновидовой бактериальной концентрированной закваске, КОЕ/г.

# Приготовление производственной закваски

Производственная закваска для выработки сыров готовилась путем внесения поливидовых бактериальных концентрированных заквасок (сконструированных согласно формуле 1) в колбы эрленмейера со стерильным восстановленным обезжиренным молоком с содержанием сухих веществ  $(10,0 \pm 0,1)$ % и термостатирования при температуре  $(30 \pm 1)$  °C в течение  $(17 \pm 1)$  часов.

# Экспериментальные выработки сыров

Выработки сыров проводились (n=3) в опытно-производственном цехе Всероссийского научно-исследовательского института маслоделия и сыроделия (Углич, Ярославская область). Сырьем для производства сыров служило сырое коровье молоко (ООО «Агриволга», Ярославская область, Угличский район, деревня Бурмасово, Россия), соответствующее требованиям ТР ТС 033/2013<sup>3</sup> и специфическим критериям сыропригодности, установленным в СТО ВНИИМС 019-2019<sup>4</sup>.

Методика выполнения измерений летучих вкусо-ароматических веществ газохроматографическим методом. Аттестована ФГУП «ВНИИМС», свидетельство № 103.5-86-08 от 07.11.2008. Зарегистрирована в Федеральном реестре МВИ под № ФР.1.31.2008.05148. Углич, 2008.

ГОСТ 33630-2015 Сыры и сыры плавленые. Методы контроля органолептических показателей. Москва: Стандартинформ.

Технический регламент Таможенного Союза ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции»: принят Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 9 октября 2013 года № 67; дата введения 01.05. 2014. Электронный фонд правовых и нормативно-технических документов. https://docs.ntd. ru/document/499050562

СТО ВНИИМС 019–2019 Молоко коровье сырое. Технические условия. Углич: ВНИИМС, 2019.

Сыры вырабатывались из молока, пастеризованного при температуре  $(71 \pm 1)$  °C с выдержкой 20–25 секунд. В подготовленную к свертыванию смесь при температуре  $(33 \pm 1)$ °C вносили производственную бактериальную закваску в дозе 0,6% от объема молочной смеси и 1,0 г/100 дм3 сычужного фермента ТВС «Фермент сычужный 90» марки «Экстра» (ООО «Завод эндокринных ферментов», Россия). Продолжительность свертывания смеси —  $(35 \pm 5)$  минут. После разрезки сгустка зерно вымешивали (25  $\pm$  5) минут до начала второго нагревания. Готовность зерна к второму нагреванию определяли, оценивая его по плотности, упругости и форме. Температура второго нагревания была установлена (41 ± 1) °С. Окончание обсушки зерна определяли по его упругости. Сыр формовали из пласта. Масса головки после прессования (5,0  $\pm$  0,5) кг. После прессования сыры солили в рассоле с концентрацией NaCl (18–20) % при температуре (11  $\pm$  1) °C. Продолжительность посолки составила (23 ± 1) часа. После посолки и обсушки сыры помещали в камеру созревания Spazion 410L (Spazion, Россия) с температурой воздуха  $(11 \pm 1)$  °С на 60 суток для созревания.

# **РЕЗУЛЬТАТЫ**

Проведены выработки сыров по традиционной технологии сыра Голландский с применением поливидовых бактериальных концентрированных заквасок, сконструированных путем комбинации различных соотношений моновидовых бактериальных концентрированных заквасок целевого назначения. Представлены результаты исследования влияния состава поливидовых бактериальных концентрированных заквасок на интенсивность и направленность физико-химических и микробиологических процессов во время выработки и созревания сыров, а также формирование органолептического профиля сыров.

# Конструирование состава поливидовых заквасок

Для исследования влияния лейконостоков на процессы созревания полутвердых сыров и формирование органолептических показателей проведены выработки с использованием поливидовых бактериальных концентрированных заквасок с различным соотношением лактококков и лейконостока. В качестве контрольного варианта рассматривали сыры, выработанные с ис-

пользованием закваски, содержащей лактококки в соотношении *LcLL*: *LcLC*: *LcLD* = 30 : 30 : 40% (вариант 1). В опытных вариантах использовали, как частичную замену диацетильного лактококка (*LcLD*) на лейконосток (*Leu*) (вариант 2), так и полную (вариант 3). Соотношения моновидовых бактериальных концентрированных заквасок в составе поливидовых представлены в Таблице 1.

## Таблица 1

# Варианты соотношения молочнокислых микроорганизмов в составе закваски

Table 1

# Variants of the Ratio of Lactic Acid Microorganisms in the Composition of the Starter

| Номер<br>варианта | Состав<br>заквасочной<br>микрофлоры* | Соотношение<br>культур<br>в составе сухих<br>бактериальных<br>заквасках | Способ<br>внесения                |  |
|-------------------|--------------------------------------|---|-----------------------------------|--|
| 1                 | LcLL:LcLC:LcLD                       | 30:30:40  | Производ-<br>ственная<br>закваска |  |
| 2                 | LcLL:LcLC:LcLD:Leu                   | 30:30:20:20   |                                   |  |
| 3                 | LcLL:LcLC:Leu                        | 30:30:40  |                                   |  |

Примечание. \*Lactococcus lactis subsp. lactis — LcLL; Lactococcus cremoris — LcLC; Lactococcus lactis subsp. lactis biovar diacetylactis — LcLD; Leuconostoc subsp.—Leu.

Note. \*Lactococcus lactis subsp. lactis — LcLL; Lactococcus cremoris — LcLC; Lactococcus lactis subsp. lactis biovar diacetylactis — LcLD; Leuconostoc subsp — Leu.

# Микробиологические процессы во время выработки и созревания сыров

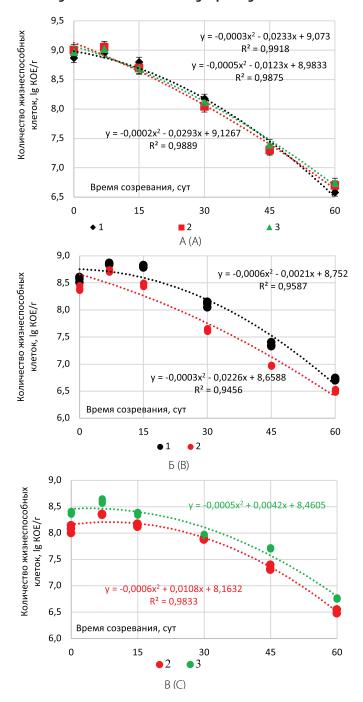
Проведены исследования микробиологических процессов во время выработки и созревания сыров. Динамика развития клеточной популяции Lc. lactis subsp. lactis u Lc. cremoris, Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis, Leuconostoc subsp. в процессе созревания сыров, представлена на Рисунке 1. Установлено, что во всех исследуемых вариантах сыров максимальное количество жизнеспособных клеток лактококков и лейконостока достигается к 7 суткам созревания с последующим интенсивным вымиранием клеточных популяций, что приводит к их снижению в сырах кондиционной зрелости на 2-2,5 порядка. Стоит отметить, что клеточные популяции цитратсбраживающих MO Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis (Рисунок 1 Б) и Leuconostoc subsp. (Рисунок 1 В) развиваются идентично и в условиях созревания вымирают с равнозначной интенсивностью.

# Рисунок 1

# Динамика количества жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов в сырах в процессе созревания

Figure 1

# Dynamics of the Number of Viable Cells of Starter Microorganisms in Cheeses during Ripening



Примечание. А — Lc. Lactis subsp. lactis и Lc. cremoris,  $\mathcal{B}$  — Lc. Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis,  $\mathcal{B}$  — Leuconostoc subsp.

Note. A - Lc. Lactis subsp. lactis and Lc. cremoris, B - Lc. Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis, C - Leuconostoc subsp.

# Физико-химические процессы во время выработки и созревания сыров

Интенсивность молочнокислого процесса оценивали по продуктам гликолиза лактозы, т.е. убыли лактозы, возможному накоплению глюкозы и галактозы, приросту количества молочной кислоты и снижению рН в сырах в процессе созревания, представленными в Таблице 2. Установлено, что использование в составе поливидовых бактериальных концентрированных заквасок культуры Leuconostoc subsp. (варианты 2 и 3) замедляет интенсивность молочнокислого процесса на этапе выработки сыров, по сравнению с контрольным образцом (вариант 1), в связи с чем остаточное количество лактозы в сыре после прессования находится на уровне выше 1,15 %. Увеличение доли лейконостока в составе закваски до (40  $\pm$  1) % (вариант 3), привело к снижению уровня активной кислотности на этапе выработки сыра, по сравнению с контрольным образцом (вариант 1), ниже нормируемого<sup>1</sup>. Однако, к 7 суткам созревания отмечено практически полное сбраживание лактозы в опытных образцах, что говорит о достижении необходимого уровня гликолиза в процессе созревания.

Анализ результатов динамики степени протеолиза в процессе созревания сыров (Рисунок 2) показывает, что при замене диацетильного лактококка на *Leuconostoc* subsp. интенсивность протеолиза незначительно снижается. При этом увеличение в составе закваски доли *Leuconostoc* subsp. (вариант 3) снизило степень протеолиза в сырах кондиционной зрелости в 1,1 раза, по сравнению с контрольным образцом (вариант 1).

Однако согласно молекулярно-массовому распределению продуктов протеолиза (Рисунок 3) отмечено, что количество низкомолекулярных пептидов и аминокислот (менее 0,5 кДа) зафиксировано больше в сырах кондиционной зрелости (60 суток), выработанных с использованием культуры Leuconostoc subsp. (варианты 2 и 3). В сырах, выработанных с использованием комплекса газо -ароматообразующих культур (2 вариант), преобладающими фракциями продуктов протеолиза отмечены пептиды массой от 0,5 до 1,0 кДа. Сыры, выработанные с применением лактококковой закваски,

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> ТИ ГОСТ 32260–2013 Сборник технологических инструкций по производству полутвердых сыров. — Углич: ГНУ ВНИИМС, 2015. — 179 с.

Таблица 2 Динамика содержания в сырах лактозы, моносахаридов и молочной кислоты

Table 2 Dynamics of the Content of Lactose, Monosaccharides and Lactic Acid in Cheeses

| Вариант | Массовая доля<br>лактозы,% | Массовая доля<br>глюкозы,% | Массовая доля<br>галактозы, % | Массовая доля<br>молочной кислоты,% | Активная<br>кислотность, pH |
|---------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|
|         |                            | Сыр п                      | осле прессования              |                                     |                             |
| 1       | 0,93 ± 0,06                | отсутствует                | отсутствует                   | 0,41 ± 0,02                         | 5,71 ± 0,04                 |
| 2       | 1,28 ± 0,13                | отсутствует                | отсутствует                   | 0,37 ± 0,02                         | 5,78 ± 0,05                 |
| 3       | 1,58 ± 0,10                | отсутствует                | отсутствует                   | 0,26 ± 0,03                         | 5,89 ± 0,04                 |
|         |                            | Сыр в                      | возрасте 7 суток              |                                     |                             |
| 1       | отсутствует                | отсутствует                | отсутствует                   | 1,82 ± 0,12                         | 5,29 ± 0,03                 |
| 2       | следы                      | отсутствует                | отсутствует                   | 1,64 ± 0,14                         | 5,37 ± 0,04                 |
| 3       | следы                      | отсутствует                | отсутствует                   | 1,62 ± 0,12                         | $5,40 \pm 0,04$             |
|         |                            | Сырве                      | возрасте 15 суток             |                                     |                             |
| 1       | отсутствует                | отсутствует                | отсутствует                   | 1,86 ± 0,15                         | 5,21 ± 0,02                 |
| 2       | отсутствует                | отсутствует                | отсутствует                   | 1,85 ± 0,16                         | 5,20 ± 0,03                 |
| 3       | отсутствует                | отсутствует                | отсутствует                   | 1,85 ± 0,16                         | 5,20 ± 0,02                 |

Рисунок 2 Динамика степени протеолиза в сырах во время созревания

Dynamics of the Degree of Proteolysis in Cheeses during Ripening

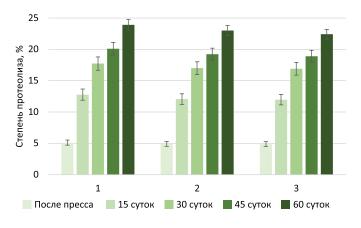
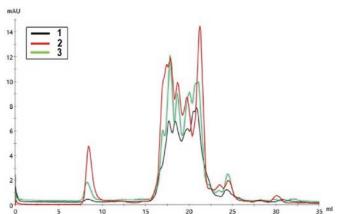


Рисунок 3

Хроматограммы молекулярно-массового распределения продуктов протеолиза сыров кондиционной зрелости

Figure 3

Chromatograms of Molecular Mass Distribution of **Proteolysis Products of Mature Cheeses** 



отличались преобладанием пептидов с молекулярной массой от 1,0 до 2,0 кДа, что отразилось на органолептическом профиле сыров кондиционной зрелости.

# Определение летучих вкусо-ароматических веществ

В Таблице 3 представлен качественный и количественный состав летучих вкусо-ароматических веществ (ЛВАВ) в паровой фазе сыров кондиционной зрелости (60 суток). Наибольшее количество ЛВАВ содержит паровая фаза сыров, выработанных с применением лактококковой закваски, содержащей в качестве газо- ароматообразующего компонента Lc. Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis (вариант 1). В данных сырах преобладающим летучим вкусо-ароматическим соединением является этаналь (61,831  $\pm$  1,060) %. В опытных сырах в микробиоту которых включены микроорганизмы рода Leuconostoc subsp. (варианты 2 и 3) преобладающим летучим вкусо-ароматическим соединением так

Таблица 3 Содержание летучих ВАВ в сырах кондиционной **зрелости** 

Table 3 Content of Volatile Flavor and Aroma Substances in **Conditionally ripe Cheeses** 

| Наименование                               | Вариант        |                |                |  |  |  |
|--|----------------|----------------|----------------|--|--|--|
| ЛВАВ                                       | 1              | 2              | 3              |  |  |  |
| Альдегиды, %:                              |                |                |                |  |  |  |
| этаналь                                    | 61,831 ± 1,060 | 96,892 ± 1,364 | 94,259 ± 1,176 |  |  |  |
| бутаналь                                   | _              | 0,098 ± 0,007  | _              |  |  |  |
| пропаналь                                  | 8,172 ± 0,972  | _              | _              |  |  |  |
| изо-гексаналь                              | 0,011 ± 0,002  | _              | _              |  |  |  |
| изо-гептаналь                              | 0,092 ± 0,008  | _              | _              |  |  |  |
| Спирты, %:                                 |                |                |                |  |  |  |
| гексанол-1                                 | 0,151 ± 0,022  | _              | _              |  |  |  |
| метанол                                    | _              | _              | 0,026 ± 0,004  |  |  |  |
| Кетоны и его производные, %:               |                |                |                |  |  |  |
| бутанон-2                                  | 0,031 ± 0,004  | 2,329 ± 0,131  | 4,546 ± 0,195  |  |  |  |
| гептанон-2                                 | 0,232 ± 0,012  | _              | _              |  |  |  |
| гексанон-2                                 | 0,081 ± 0,010  | _              | _              |  |  |  |
| Общее содер-<br>жание летучих<br>ВАВ, нА·с | 2,274 ± 0,116  | 1,914 ± 0,102  | 1,684 ± 0,142  |  |  |  |

же является этаналь, при этом его доля значительно выше и составляет (96,892  $\pm$  1,364) % и (94,259  $\pm$  1,176) % соответственно. Добавление в состав заквасочной микробиоты лейконостока снижает не только общее количество ЛВАВ, но и разнообразие идентифицированных ЛВАВ в сырах кондиционной зрелости.

# Органолептическая оценка сыров

Состав и соотношение заквасочных культур, используемых в производстве сыров, оказывая влияние на процессы выработки и созревания, во многом определяют формирование органолептического профиля сыров. Результаты органолептической экспертной оценки сыров в процессе созревания отражены на диаграмме балльных оценок и гистограмме основных дескрипторов вкуса и аромата (Рисунки 4 и 5), которые подтверждают ранее полученные данные, о том, что опытные образцы, выработанные с использованием лактококковой закваски (вариант 1), к 60 суткам созревания характеризовались, как сыры с выраженным сырным, слегка кисловатым вкусом с наличием остроты, а также слабым сливочным ароматом и оценены экспертами по максимальному баллу.

Экспериментальные сыры с частичной заменой диацетильного лактококка на лейконосток (вариант 2), относительно контрольных сыров варианта 1, к концу срока созревания имели более кислый и менее выраженный сырный вкус, поэтому оценены экспертами в 42 балла. В сырах, при выработке которых применялась закваска с полной заменой Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis на Leuconostoc subsp. (вариант 3) к концу срока созревания отмечены: умеренная выраженность сырного вкуса отсутствие сливочного аромата, а также умеренная кислота, в связи с чем оценка экспертами за вкус — 38 баллов.

Консистенцию сыров в процессе созревания оценивали органолептически. Консистенция в сырах с частичной заменой диацетильного лактококка на лейконосток (вариант 2) оценена в 23 балла, по причине того, что характеризовалась как пластичная. В сырах, при выработке которых применялась закваска с полной заменой Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis на Leuconostoc subsp. (вариант 3) отмечена излишняя пластичность, ставшая в процессе созревания мажущейся (21 балл). Контрольные образцы сыров, выработанные с использованием лактококковой закваски (вариант 1), отличались хорошей эластично-пластичной консистенцией.

# Рисунок 4

# Балльная оценка органолептических показателей сыров в возрасте 30 и 60 суток

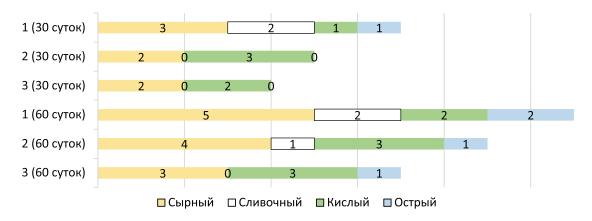
Figure 4

Scoring of Organoleptic Indicators of Cheeses Aged 30 and 60 Days



Рисунок 5 **Гистограмма основных дескрипторов вкуса и аромата сыров в возрасте 30 и 60 суток** 

Figure 5
Histogram of the Main Taste and Aroma Descriptors of Cheeses Aged 30 and 60 Days



# Рисунок 6

# Рисунок сыров на разрезе в возрасте кондиционной зрелости

Figure 6

Drawing of Cheeses on a Cut at the Age of Conditional Maturity







Важной характеристикой сыров данной группы является рисунок. Анализ внешнего вида сыров кондиционной зрелости (Рисунок 6) показывает, что все образцы имели светло-желтый равномерный цвет сырного теста. При этом характерный для данной группы сыров рисунок присутствует только в сырах, выработанных на лактококковой бактериальной закваске (вариант 1). Отмечено, что в экспериментальных сырах, при выработке которых применялась закваска с частичной заменой *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* на *Leuconostoc* subsp. (вариант 2), присутствовал гнездовидный рисунок и небольшие трещины (до 15 мм). В сырах варианта 3, с единственным газо- и ароматообразователем — *Leuconostoc* subsp. отмечен слепой рисунок и небольшие трещины (до 15 мм).

# ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Конструирование поливидовых бактериальных заквасок целевого назначения остается критически важной задачей для сыродельной промышленности, направленной на стандартизацию качества и обеспечение идентификационных характеристик продуктов. Настоящее исследование эмпирически подтверждает, что включение культуры Leuconostoc subsp. в состав заквасок для полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания оказывает комплексное влияние на ключевые биохимические и микробиологические процессы выработки и созревания, что в конечном итоге детерминирует органолептический профиль готового продукта.

Полученные данные демонстрируют, что содержание Leuconostoc subsp. в закваске на уровне 20% и выше приводит к статистически значимому замедлению молочнокислого процесса на этапе выработки сыра. Это проявляется в более высоком остаточном содержании лактозы после прессования и снижении скорости накопления молочной кислоты по сравнению с контрольным вариантом. На уровне метаболизма это объясняется тем, что в отличие от гомоферментативных лактококков, которые сбраживают лактозу преимущественно с образованием молочной кислоты, Leuconostoc subsp. использует пентозофосфатный путь, что приводит к образованию СО, этанола или уксусной кислоты. Данный путь является менее энергоэффективным в пересчете на молекулу лактозы, что и обуславливает более низкую скорость её утилизации на начальных этапах производства.

Что касается протеолиза, наблюдаемое незначительное снижение его интенсивности в опытных вариантах согласуется с известным фактом слабой протеолитической активности лейконостоков. Leuconostoc subsp. обладает ограниченным набором протеаз и пептидаз и в значительной степени зависят от высвобождения аминокислот другими микроорганизмами, входящими в состав заквасочной микрофлоры. Однако ключевым выводом является не общая скорость протеолиза, а изменение его направленности. Представленные результаты, в частности данные молекулярно-массового распределения, показывают, что к 60 суткам созревания в сырах с Leuconostoc subsp. накапливается большее количество низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот (менее 0,5 кДа), что объясняется наличием развитых систем транспорта и метаболизма продуктов протеолиза. Таким образом, Leuconostoc subsp. выступает как модулятор, влияющий на конечный состав вкусообразующих соединений.

Существенное влияние Leuconostoc subsp. оказал на формирование ароматического букета. Резкое снижение общего количества и разнообразия летучих вкусо-ароматических веществ при увеличении доли лейконостока связано с угнетением диацетилового пути. В сырах с лактококковой закваской культура *Lc*. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis активно метаболизирует цитрат с образованием α-ацетолактата, который при окислительном декарбоксилировании спонтанно или ферментативно превращается в диацетил — соединение, вносящее основной вклад в формирование аромата. Однако метаболизм Leuconostoc subsp направлен преимущественно на образование не диацетила, а ацетоина и 2,3-бутандиола — соединений со значительно менее выраженным ароматом, что подтверждается представленными данными: в варианте 1 наблюдается сложный спектр ЛВАВ (альдегиды, кетоны, спирты), в то время как в вариантах 2 и 3 ароматический профиль резко обедняется и доминирует этаналь, что и приводит к менее выраженному аромату.

Стоит отметить, что негативный эффект не ограничился ароматом. Установлена прямая зависимость между повышенным содержанием *Leuconostoc* subsp. и пороками консистенции (пластичность) и рисунка (гнездовидный, слепой). Это связывается с особенностями газообразования: лейконостоки продуцируют CO₂ более интенсивно и, возможно, в иные сроки, что нарушает структуру сырного теста и приводит к образованию трещин.

Оптимальное соотношение моновидовых бактериальных концентрированных заквасок в составе поливидовой (Lc. lactis subsp. lactis, Lc. cremoris, Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis в пропорции 30:30:40) подтвердило свою эффективность в формировании идентификационного органолептического профиля сыра Голландский (Свириденко и др., 2023).

В отличие от исследований Mastrigt et al. (2019), которые рассматривали Leuconostoc как перспективный компонент для улучшения аромата в модельных системах, данное исследование на реальной сырной матрице эмпирически доказывает, что его содержание свыше 20% оказывает негативное влияние на комплекс органолептических свойств полутвердого сыра.

Представленные результаты подтверждают и детализируют выводы Bourdichon et al. (2012) и Hemme (2012) о критической важности баланса между микроорганизмами в закваске, количественно определив пороговое значение для лейконостоков.

Наблюдаемое снижение образования диацетила при замене Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis на Leuconostoc subsp. экспериментально подтверждает ключевую роль именно диацетильного лактококка в ароматообразовании, что согласуется с работой Garcia-Quintans et al. (2008). При этом, исследование расширяет работу Pedersen et al. (2016), уточняя, что негативный эффект от Leuconostoc subsp. проявляется не только в изменении вкусо-ароматических характеристик, но и в нарушениях текстурных свойств и рисунка сыра, связывая это с его метаболическими особенностями.

Таким образом, исследование подчеркивает необходимость точного баланса и соотношения между заквасочными культурами целевого назначения и предоставляет научно обоснованные критерии для минимизации рисков ухудшения качества полутвердых сыров.

# Практические импликации

Результаты исследования имеют прямые практические рекомендации для биофабрик, разрабатывающих бактериальные закваски, и их использующих сыродельных предприятий.

Для полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания, формуемых из пласта, доля Leuconostoc subsp. в составе закваски не должна превышать 20%. Превышение этого порога ведет к системному ухудшению качества продукта.

Использование бактериальных заквасок с высоким содержанием лейконостоков может быть целесообразно для получения сыров с менее выраженным, нейтральным вкусом, однако неприемлемо для продуктов, требующих выраженного сырного вкуса и аромата.

Данное исследование впервые устанавливает прямую зависимость между долей Leuconostoc subsp. в составе закваски и характером рисунка. Для предотвращения образования гнездовидного рисунка и трещин необходимо строго контролировать не только общее количество газообразующих микроорганизмов, но и их видовое соотношение.

# Ограничения исследования

Использование стандартизированных условий выработки сыров позволило минимизировать внешние воздействия, но ограничило вариативность, характерную для промышленного производства.

# **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, проведенное исследование позволило установить количественное влияние культуры Leuconostoc subsp. в составе поливидовых бактериальных заквасок на органолептический профиль и качество полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания. Полученные результаты демонстрируют, что превышение порога в 20% доли лейконостока в заквасочной микробиоте приводит к системным изменениям в технологическом процессе. Замедление гликолиза на этапе выработки и снижение интенсивности протеолиза в процессе созревания являются ключевыми факторами, обуславливающими изменения в органолептических характеристиках готового продукта. Наиболее значимыми негативными последствиями являются снижение общего количества и разнообразия летучих вкусо-ароматических веществ, формирование менее выраженного сырного вкуса и аромата, появление излишней пластичной или мажущейся консистенции, а также развитие дефектов рисунка (гнездовидный или слепой рисунок с трещинами), что приводит к снижению общей балльной оценки и, как следствие, сортности сыра. Таким образом, проведенное исследование предоставляет научно обоснованные рекомендации для конструирования поливидовых заквасок, способствующих производству сыров с высокими органолептическими характеристиками.

На основе анализа полученных результатов, выдвигается новая гипотеза о синергетическом эффекте штаммов: комбинация штаммов Leuconostoc subsp. с другими молочнокислыми культурами (например, молочнокислыми палочками) может компенсировать негативное влияние избытка лейконостоков на органолептические свойства полутвердых сыров, улучшая аромат и консистенцию. Таким образом проведенное исследование открывает широкие возможности для углубленного изучения роли Leuconostoc и других заквасочных микроорганизмов в сыроделии.

# АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Галина Михайловна Свириденко: концептуализация, руководство исследованием, методология, формальный анализ, администрирование данных, создание рукописи и её редактирование, администрирование проекта.

Денис Станиславович Мамыкин: методология, верификация данных, формальный анализ, проведение исследования, визуализация, создание черновика рукописи, создание рукописи и её редактирование.

Ольга Михайловна Шухалова: проведение исследования, создание черновика рукописи, визуализация.

# **AUTHOR CONTRIBUTIONS**

**Galina M. Sviridenko:** conceptualization, study supervision, methodology, formal analysis, data administration, manuscript drafting and editing, project administration.

Denis S. Mamykin: methodology, data verification, formal analysis, research implementation, visualization, manuscript drafting, manuscript writing and editing.

Olga M. Shukhalova: conducting research, creating a draft manuscript, visualization.

# **ЛИТЕРАТУРА**

- Баранова, И. В., & Голова Е.Е. (2021). Российский рынок сыров в условиях пандемии COVID-19: состояние и перспективы развития. Фундаментальные исследования, (11), 32-38. https://doi.org/10.17513/fr.43118
- Зипаев, Д.В., & Красникова, Л.В. (2019). Биотехнология заквасок для молочной промышленности, культивирование микроорганизмов. Молочная промышленность, (8), 32–34.
- Мамыкин, Д. С. (2025). Разработка поливидовых бактериальных заквасок для технологии полутвердых сыров [Кандидатская диссертация, ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН]. Российская государственная библиотека. https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01013696477
- Решеткина, Ю. В., Шатова, А. В., & Столярова, О. А. (2023). Основные направления повышения экономической эффективности функционирования молочнопродуктового подкомплекса региона. Вестник Мичуринского государственного аграрного университета, 72(1), 147–151.
- Свириденко, Г.М., Мордвинова, В. А., Шухалова, О. М., & Мамыкин Д. С. (2023). Биотехнологические подходы улучшения органолептических характеристик полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания. Пищевая промышленность, (2), 56–60. https://doi.org/10.52653/PPI.2023.2.2.013
- Сорокина, Н. П., Кураева, Е. В., & Шпак, А.В. (2021). Состав и свойства заквасочной микрофлоры для полутвердых сыров. Сыроделие и маслоделие, (3), 42-46. https://doi.org/10.31515/2073-4018-2021-3-42-46
- Сурай, Н. М., Михалев, А. П., Столярова, А. Н., & Чернухина Г.Н. (2024). Рынок сыра и сырных продуктов на примере регионов-лидеров центрального федерального округа России. Сыроделие и маслоделие, (2), 14–23. https://doi.org/ 10.21603/2073-4018-2024-2-4
- Сурай, Н. М., Таточенко, А. Л., Терехова, А. А., Михалев, А. П., & Корнева, Г. В. (2024). Регионы-лидеры сыроделия: создание собственных сырных брендов и их трансформация в бренды территорий. Сыроделие и маслоделие, (1), 10-25. https://doi.org/10.21603/2073-4018-2024-1-2

- Abrar, N. A.-H., & Nidhal, M. S. A.-J. (2024). Biochemical and genetic identification of two local diacetyl producer bacterial isolates: Biochemical and genetic identification of two local diacetyl producer bacterial isolates. Iraqi Journal of Market Research and Consumer Protection, 16(2), 172–187. https://doi.org/10.28936/jmracpc16.2.2024.(15)
- Bourdichon, F., Casaregola, S., Farrokh, C., Frisvad, J. C., Gerds, M. L., Hammes, W. P., Harnett, J., Huys, G., Laulund, S., Ouwehand, A., Powell, I. B., Prajapati, J. B., Seto, Y., E. T. Schure, Boven, A. V., Vankerckhoven, V., Zgoda, A., Tuijtelaars, S., & Hansen, E. B. (2012). Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use. International journal of food microbiology, 154(3), 87-97. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.030
- Decadt, H., & Vuyst, L. (2023). Insights into the microbiota and defects of present-day Gouda cheese productions. Current Opinion in Food Science, 52, 101044. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2023.101044
- Endo, A., Maeno, S., & Liu, S. Q. (2021). Lactic acid bacteria: Leuconostoc spp. In Encyclopedia of Dairy Sciences: Third edition (Vol. 4, pp. 226–232). Elsevier.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H. (2017). Biochemistry of cheese ripening, Fundamentals of Cheese Science (pp. 391–442). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9\_12
- Fusieger, A., Martins, M. C. F., de Freitas, R., Nero, L. A., & de Carvalho, A. F. (2020). Technological properties of Lactococcus lactis subsp. lactis bv. diacetylactis obtained from dairy and non-dairy niches. Brazilian Journal of Microbiology, 51, 313-321. https://doi.org/10.1007/s42770-019-00182-3
- Fusieger, A., Perin, L. M., Teixeira, C. G. Carvalho, A. F., & Nero, L. A. (2020). The ability of Lactococcus lactis subsp. lactis bv. diacetylactis strains in producing nisin. Antonie van Leeuwenhoek, 113(5), 651–662. https://doi.org/10.1007/s10482-019-01373-6
- Garbowska, M., Pluta, A., & Berthold-Pluta, A. (2020). Proteolytic and ACE-inhibitory activities of Dutchtype cheese models prepared with different strains of Lactococcus lactis. Food Bioscience, 35, 100604. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100604
- Garcia-Quintans, N., Repizo, G., Martin, M., Magni, C., & Lopez, P. (2008). Activation of the diacetyl/acetoin pathway in Lactococcus lactis subsp. lactis bv. diacetylactis CRL264 by acidic growth. Applied and Environmental Microbiology, 74(7). 1988–1996. https://doi.org/10.1128/AEM.01851-07
- Hemme, D. (2012). Leuconostoc and its use in dairy technology. Handbook of Animal-Based Fermented Food and Beverage Technology, 2nd ed.; Yui, Y.H., Ed, 73-107. https://doi.org/10.1201/b12084
- Kelleher, P., Bottacini, F., Mahony, J., Kilcawley, K. N., & Sinderen, D. (2017). Comparative and functional genomics of the Lactococcus lactis taxon; insights into evolution and niche adaptation. BMC Genomics, 18, 267. https://doi.org/10.1186/s12864-017-3650-5
- Kihal, M., Prevost, H., Henni, D. E., Benmechernene, Z., & Diviès, C. (2007). Carbon dioxide production by Leuconostoc mesenteroides grown in single and mixed culture with Lactococcus lactis in skimmed milk. World Journal of Dairy and Food Sciences, 2(2), 62–68.
- Kochetkova, T. V., Grabarnik, I. P., Klyukina, A. A., Zayulina, K. S., Gavirova, L. A., Shcherbakova, P. A., Kachmazov, G. S., Shestakov, A. I., Kublanov, I. V., & Elcheninov, A. G. (2023). The bacterial microbiota of artisanal cheeses from the Northern Caucasus. Fermentation, 9(8), 719. https://doi.org/10.3390/fermentation9080719
- Kondrotiene, K., Zavistanaviciute, P., Aksomaitiene, J., Novoslavskii, A., & Malakauskas, M. (2024). Lactococcus lactis in dairy Fermentation—health-promoting and probiotic properties. Fermentation, 10(1), 16. https://doi.org/10.3390/fermentation10010016
- Kuchroo, C.N., & Fox, P.F. (1982). Soluble nitrogen in Cheddar cheese: Comparison of extraction procedures. Milchwissenschaft, 37(6), 331–335.
- Laranjo, M., & Potes, M. E. (2022). Traditional Mediterranean cheeses: Lactic acid bacteria populations and functional traits. In Lactic Acid Bacteria in Food Biotechnology (pp. 97-124). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89875-1.00011-0
- Lee, S., Heo, S., Lee, G., Moon, Y., Kim, M., Kwak, M.-S., & Jeong, D.-W. (2024). Antibiotic susceptibility and technological properties of Leuconostoc citreum for selecting starter candidates. Microorganisms, 12(12), 2636. https://doi.org/10.3390/microorganisms12122636

# **ОЦЕНКА РИСКОВ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ ГАЗО- АРОМАТООБРАЗУЮЩЕЙ КУЛЬТУРЫ LEUCONOSTOC** В СОСТАВЕ ПОЛИВИДОВЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЗАКВАСОК ДЛЯ СЫРОДЕЛИЯ

**I** Г.М. Свириденко, Д.С. Мамыкин, О.М. Шухалова

- Manno, M. T., Zuljan, F., Alarcon, S., Esteban, L., Blancato, V., Espariz, M., & Magni, C. (2018). Genetic and phenotypic features defining industrial relevant Lactococcus lactis, L. cremoris and L. lactis biovar. diacetylactis strains. Journal of Biotechnology, 282, 25-31. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.06.345
- Mastrigt, O., Egas, R. A., Abee, T., & Smid, E. J. (2019). Aroma formation in retentostat co-cultures of Lactococcus lactis and Leuconostoc mesenteroides. Food Microbiology, 82, 151–159. https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.01.016
- Pedersen, T. B., Ristagno, D., McSweeney, P. L. H., Vogensen, F. K., & Ardo, Y. (2013). Potential impact on cheese flavour of heterofermentative bacteria from starter cultures. International Dairy Journal, 33(2), 112-119. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.03.003
- Pedersen, T.B., Vogensen, F. K., & Ardö, Y. (2016). Effect of heterofermentative lactic acid bacteria of DL-starters in initial ripening of semi-hard cheese. International Dairy Journal, 57, 72–79. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.02.041
- Psomas, E., Sakaridis, I., Boukouvala, E., Karatzia, M.-A., Ekateriniadou, L. V., & Samouris, G. (2023) Indigenous lactic acid bacteria isolated from raw Graviera cheese and evaluation of their most important technological properties. Foods, 12(2), 370. https://doi.org/10.3390/foods12020370
- Sadi, F., Zaouadi, N., Hallouz, F., Bouras, A. D., Bensehaila, S., Mosbahi, W., & Ouadjene, H. (2021). Elaboration of a semihard cheese, Gouda type, with autochthonous strains and analysis of its physicochemical and sensory composition. Indian Journal of Science and Technology, 14(47), 3425-3432. https://doi.org/10.17485/IJST/v14i47.1565
- Silva, L. F., Sunakozawa, T. N., Monteiro, D. A., Casella, T., Conti, A. C., Todorov, S. D., & Barretto Penna, A. L. (2023). Potential of cheese-associated lactic acid bacteria to metabolize citrate and produce organic acids and acetoin. Metabolites, 13(11), 1134. https://doi.org/10.3390/metabo13111134
- Sviridenko, G. M., Shukhalova, O. M., Vakhrusheva, D. S., & Mamykin, D. S. (2024). Formation of cheese pattern when using monospecies cultures. Food Systems, 7(2), 276-281. https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-276-281
- Wang, S., Chen, P., & Dang, H. (2019). Lactic acid bacteria and y-aminobutyric acid and diacetyl. Lactic Acid Bacteria: Bioengineering and Industrial Applications (pp. 1-19). Springer https://doi.org/10.1007/978-981-13-7283-4\_1

# REFERENCES

- Baranova I. V., & Golova E. E. (2021). Russian cheese market under COVID-19 pandemic: State and development prospects. Fundamental Research, (11), 32–38. (In Russ.) https://doi.org/10.17513/fr.43118
- Zipaev, D.V., & Krasnikova L.V. (2019). Biotechnology of the starters for the dairy industry. Cultivation of microorganisms. Dairy Industry, (8), 32–34. (In Russ.)
- Mamykin, D. S. (2025). Development of polyspecies bacterial starters for semi-hard cheese technology [PhD dissertation, Federal Scientific Center for Food Systems named after V.M. Gorbatov of the Russian Academy of Sciences]. The Russian State Library. (In Russ.) https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01013696477
- Reshetkina, Y. V., Shatova, A. V., & Stolyarova, O. A. (2023). Main directions for increasing the economic efficiency of the functioning of the dairy product sub-complex of the region. Bulletin of Micharinsk State Agrarian University, 72(1), 147–151. (In Russ.)
- Sviridenko, G. M., Mordvinova, V. A., Shukhalova, O. M., & Mamykin, D. S. (2023). Biotechnological approaches to improve the organoleptic characteristics of semihard cheeses with a low temperature of the second heating. Food Industry, (2), 56–60. (In Russ.) https://doi.org/10.52653/PPI.2023.2.2.013
- Sorokina, N. P., Kuraeva, E. V., & Shpak, A. V. (2021). Composition and properties of starter microflora for semi-hard cheeses. Cheese- and Buttermaking, (3), 42-46. (In Russ.) https://doi.org/10.31515/2073-4018-2021-3-42-46
- Suray, N. M., Mikhalev A. P., Stolyarova A. N., & Chernukhina, G. N. (2024). Domestic cheese market as represented by leading cheese-producing regions in central Russia. Cheese- and Buttermaking, (2), 14–23. https://doi.org/ 10.21603/2073-4018-2024-2-4

- Suray, N. M., Tatochenko, A. L., Terekhova, A. A., Mikhalev, A. P., & Korneva, G.V. (2024). Cheese-making regions: From local cheese varieties to regional brands. Cheese- and Buttermaking, (1), 10-25. (In Russ.) https://doi.org/10.21603/2073-4018-2024-1-2
- Abrar, N. A.-H., & Nidhal, M. S. A.-J. (2024). Biochemical and genetic identification of two local diacetyl producer bacterial isolates: Biochemical and genetic identification of two local diacetyl producer bacterial isolates. Iraqi Journal of Market Research and Consumer Protection, 16(2), 172–187. https://doi.org/10.28936/jmracpc16.2.2024.(15)
- Bourdichon, F., Casaregola, S., Farrokh, C., Frisvad, J. C., Gerds, M. L., Hammes, W. P., Harnett, J., Huys, G., Laulund, S., Ouwehand, A., Powell, I. B., Prajapati, J. B., Seto, Y., E. T. Schure, Boven, A. V., Vankerckhoven, V., Zgoda, A., Tuijtelaars, S., & Hansen, E. B. (2012). Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use. International journal of food microbiology, 154(3), 87-97. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.030
- Decadt, H., & Vuyst, L. (2023). Insights into the microbiota and defects of present-day Gouda cheese productions. Current Opinion in Food Science, 52, 101044. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2023.101044
- Endo, A., Maeno, S., & Liu, S. Q. (2021). Lactic acid bacteria: Leuconostoc spp. In Encyclopedia of Dairy Sciences: Third edition (Vol. 4, pp. 226–232). Elsevier.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H. (2017). Biochemistry of cheese ripening, Fundamentals of Cheese Science (pp. 391-442). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9\_12
- Fusieger, A., Martins, M. C. F., de Freitas, R., Nero, L. A., & de Carvalho, A. F. (2020). Technological properties of Lactococcus lactis subsp. lactis bv. diacetylactis obtained from dairy and non-dairy niches. Brazilian Journal of *Microbiology*, *51*, 313–321. https://doi.org/10.1007/s42770–019-00182–3
- Fusieger, A., Perin, L. M., Teixeira, C. G. Carvalho, A. F., & Nero, L. A. (2020). The ability of Lactococcus lactis subsp. lactis bv. diacetylactis strains in producing nisin. Antonie van Leeuwenhoek, 113(5), 651-662. https://doi.org/10.1007/s10482-019-01373-6
- Garbowska, M., Pluta, A., & Berthold-Pluta, A. (2020). Proteolytic and ACE-inhibitory activities of Dutchtype cheese models prepared with different strains of Lactococcus lactis. Food Bioscience, 35, 100604. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100604
- Garcia-Quintans, N., Repizo, G., Martin, M., Magni, C., & Lopez, P. (2008). Activation of the diacetyl/acetoin pathway in Lactococcus lactis subsp. lactis bv. diacetylactis CRL264 by acidic growth. Applied and Environmental Microbiology, 74(7). 1988–1996. https://doi.org/10.1128/AEM.01851-07
- Hemme, D. (2012). Leuconostoc and its use in dairy technology. Handbook of Animal-Based Fermented Food and Beverage Technology, 2nd ed.; Yui, Y.H., Ed, 73–107. https://doi.org/10.1201/b12084
- Kelleher, P., Bottacini, F., Mahony, J., Kilcawley, K. N., & Sinderen, D. (2017). Comparative and functional genomics of the Lactococcus lactis taxon; insights into evolution and niche adaptation. BMC Genomics, 18, 267. https:// doi.org/10.1186/s12864-017-3650-5
- Kihal, M., Prevost, H., Henni, D. E., Benmechernene, Z., & Diviès, C. (2007). Carbon dioxide production by Leuconostoc mesenteroides grown in single and mixed culture with Lactococcus lactis in skimmed milk. World Journal of Dairy and Food Sciences, 2(2), 62–68.
- Kochetkova, T. V., Grabarnik, I. P., Klyukina, A. A., Zayulina, K. S., Gavirova, L. A., Shcherbakova, P. A., Kachmazov, G. S., Shestakov, A. I., Kublanov, I. V., & Elcheninov, A. G. (2023). The bacterial microbiota of artisanal cheeses from the Northern Caucasus. Fermentation, 9(8), 719. https://doi.org/10.3390/fermentation9080719
- Kondrotiene, K., Zavistanaviciute, P., Aksomaitiene, J., Novoslavskii, A., & Malakauskas, M. (2024). Lactococcus lactis in dairy Fermentation—health-promoting and probiotic properties. Fermentation, 10(1), 16. https://doi.org/10.3390/fermentation10010016
- Kuchroo, C.N., & Fox, P.F. (1982). Soluble nitrogen in Cheddar cheese: Comparison of extraction procedures. Milchwissenschaft, 37(6), 331–335.
- Laranjo, M., & Potes, M. E. (2022). Traditional Mediterranean cheeses: Lactic acid bacteria populations and functional traits. In Lactic Acid Bacteria in Food Biotechnology (pp. 97-124). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89875-1.00011-0

- Lee, S., Heo, S., Lee, G., Moon, Y., Kim, M., Kwak, M.-S., & Jeong, D.-W. (2024). Antibiotic susceptibility and technological properties of Leuconostoc citreum for selecting starter candidates. Microorganisms, 12(12), 2636. https://doi.org/10.3390/microorganisms12122636
- Manno, M. T., Zuljan, F., Alarcon, S., Esteban, L., Blancato, V., Espariz, M., & Magni, C. (2018). Genetic and phenotypic features defining industrial relevant Lactococcus lactis, L. cremoris and L. lactis biovar. diacetylactis strains. Journal of Biotechnology, 282, 25-31. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.06.345
- Mastrigt, O., Egas, R. A., Abee, T., & Smid, E. J. (2019). Aroma formation in retentostat co-cultures of Lactococcus lactis and Leuconostoc mesenteroides. Food Microbiology, 82, 151–159. https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.01.016
- Pedersen, T. B., Ristagno, D., McSweeney, P. L. H., Vogensen, F. K., & Ardo, Y. (2013). Potential impact on cheese flavour of heterofermentative bacteria from starter cultures. International Dairy Journal, 33(2), 112-119. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.03.003
- Pedersen, T.B., Vogensen, F. K., & Ardö, Y. (2016). Effect of heterofermentative lactic acid bacteria of DL-starters in initial ripening of semi-hard cheese. International Dairy Journal, 57, 72-79. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.02.041
- Psomas, E., Sakaridis, I., Boukouvala, E., Karatzia, M.-A., Ekateriniadou, L. V., & Samouris, G. (2023) Indigenous lactic acid bacteria isolated from raw Graviera cheese and evaluation of their most important technological properties. Foods, 12(2), 370. https://doi.org/10.3390/foods12020370
- Sadi, F., Zaouadi, N., Hallouz, F., Bouras, A. D., Bensehaila, S., Mosbahi, W., & Ouadjene, H. (2021). Elaboration of a semihard cheese, Gouda type, with autochthonous strains and analysis of its physicochemical and sensory composition. Indian Journal of Science and Technology, 14(47), 3425-3432. https://doi.org/10.17485/IJST/v14i47.1565
- Silva, L. F., Sunakozawa, T. N., Monteiro, D. A., Casella, T., Conti, A. C., Todorov, S. D., & Barretto Penna, A. L. (2023). Potential of cheese-associated lactic acid bacteria to metabolize citrate and produce organic acids and acetoin. Metabolites, 13(11), 1134. https://doi.org/10.3390/metabo13111134
- Sviridenko, G. M., Shukhalova, O. M., Vakhrusheva, D. S., & Mamykin, D. S. (2024). Formation of cheese pattern when using monospecies cultures. Food Systems, 7(2), 276-281. https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-276-281
- Wang, S., Chen, P., & Dang, H. (2019). Lactic acid bacteria and γ-aminobutyric acid and diacetyl. Lactic Acid Bacteria: Bioengineering and Industrial Applications (pp. 1–19). Springer https://doi.org/10.1007/978–981-13–7283-4\_1

# ОБ АВТОРАХ

- Свириденко Галина Михайловна, доктор технических наук, главный научный сотрудник направления микробиологических исследований молока и молочных продуктов Всероссийского научноисследовательского института маслоделия и сыроделия — филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН (152613, Российская Федерация, Ярославская область, г. Углич, Красноармейский бульвар, д. 19), ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1231-8388, Scopus ID: 57450312700, AuthorID: 541902, g.sviridenko@fncps.ru
- Мамыкин Денис Станиславович, младший научный сотрудник направления микробиологических исследований молока и молочных продуктов Всероссийского научно-исследовательского института маслоделия и сыроделия — филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН (152613, Российская Федерация, Ярославская область, г. Углич, Красноармейский бульвар, д. 19), ORCID: https://orcid.org/ 0000-0002-2145-1439, Scopus ID: 57830463400, SPIN-код: 3306–4884, d.mamykin@fncps.ru
- Шухалова Ольга Михайловна, кандидат технических наук, руководитель отдела микробиологических исследований Всероссийского научно-исследовательского института маслоделия и сыроделия филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН (152613, Российская Федерация, Ярославская область, г. Углич, Красноармейский бульвар, д. 19), ORCID: https://orcid.org/ 0000-0002-7665-8517, Scopus ID: 57830556600, Researcher ID: LRT-1941-2024, SPIN-код: 2064-7197, o.shukhalova@fncps.ru

# **ABOUT THE AUTHORS**

- Sviridenko Galina Mikhailovna, Doctor of Technical Sciences, Chief Researcher in the Microbiological Research Department of Milk and Dairy Products All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking – Branch of V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems, RAS (152613, Russian Federation, Yaroslavl region, Uglich, Krasnoarmeysky boulevard, 19), ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1231-8388, Scopus ID: 57450312700, AuthorID: 541902, g.sviridenko@fncps.ru
- Mamykin Denis Stanislavovich, Junior Researcher in the Department of Microbiological Research of Milk and Dairy Products All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking — Branch of V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems, RAS (152613, Russian Federation, Yaroslavl region, Uglich, Krasnoarmeysky boulevard, 19), ORCID: https://orcid.org/ 0000-0002-2145-1439, Scopus ID: 57830463400, SPIN-code: 3306-4884, d.mamykin@fncps.ru
- Shukhalova Olga Mikhailovna, Candidate of Technical Sciences, Head of Microbiological Research Department All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking — Branch of V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems, RAS (152613, Russian Federation, Yaroslavl region, Uglich, Krasnoarmeysky boulevard, 19), ORCID: https://orcid.org/ 0000-0002-7665-8517, Scopus ID: 57830556600, Researcher ID: LRT-1941-2024, SPIN-code: 2064-7197, o.shukhalova@fncps.ru