

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**Факультет технології виробництва і переробки продукції тваринництва,
стандартизації та біотехнології**

Кафедра біотехнології та біоінженерії
Спеціальність 162 – «Біотехнології та біоінженерія»
Ступінь вищої освіти «Магістр»

«Допустити до захисту»

Декан _____ Михайло ГИЛЬ

“ _____ ” _____ 20 ____ р.

«Рекомендувати до захисту»

В.о. зав. кафедри _____ Олена КАРАТЄСВА

“ _____ ” _____ 20 ____ р.

**ДОСЛІДЖЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ РІЗНИХ
ШТАМІВ *PENICILLIUM ROQUEFORTI* ПРИ ВИГОТОВЛЕННІ СИРІВ
ТИПУ «РОКФОР»**

04.02. – КР. 105-О 25 07 22. 004

Виконавець:

здобувач вищої

освіти II курсу _____ Максим ДАНИЛЮК

Науковий керівник:

доцентка _____ Олена ЮЛЕВИЧ

Рецензент:

професор _____ Михайло ГИЛЬ

Миколаїв – 2025

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	3
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	5
ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	8
1.1. Загальна характеристика сирів з пліснявою	8
1.2. Особливості технології виробництва пліснявих сирів	12
1.3. Характеристика грибів виду <i>Penicillium roqueforti</i>	16
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ, УМОВИ І МЕТОДИКА ВИКОНАННЯ РОБОТИ	20
2.1. Місце та об'єкт дослідження	20
2.2. Методика виконання роботи	22
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	29
3.1. Оцінка біотехнологічних властивостей штамів <i>Penicillium roqueforti</i>	29
3.2. Визначення впливу поживних середовищ на показники росту і розвитку <i>Penicillium roqueforti</i>	34
3.3. Технологічна схема виробництва сиру типу «Рокфор»	41
3.4. Органолептична оцінка виготовленого пліснявого сиру	46
3.5. Економічна частина	48
РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ	52
РОЗДІЛ 5. БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ	57
РОЗДІЛ 6. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ	61
ВИСНОВКИ	64
ПРОПОЗИЦІЇ	66
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	67
ДОДАТОК А	77

РЕФЕРАТ

Тема кваліфікаційної роботи: «Дослідження біотехнологічних властивостей різних штамів *Penicillium roqueforti* при виготовленні сирів типу Рокфор».

Ключові слова: *Penicillium roqueforti*, поживне середовище, спороутворення, біомаса, біотехнологічні властивості, сир типу «Рокфор».

Кваліфікаційна робота виконана на 77 сторінках друкованого тексту, містить 8 таблиць, 7 рисунків, 1 додаток та список використаної літератури із 88 бібліографічних джерел. Робота складається з шести розділів: огляд літератури; матеріали, умови і методика виконання роботи; результати досліджень; охорона праці; безпека в надзвичайних ситуаціях; охорона довкілля.

Об'єкт дослідження – штами цвілевого гриба *Penicillium roqueforti*, використані для виробництва сирів з блакитною пліснявою типу «Рокфор».

Предмет дослідження – ферментативні, морфологічні та фізіологічні властивості *Penicillium roqueforti* залежно від умов і складу поживних середовищ.

Метою дослідження є оцінка біотехнологічних властивостей *Penicillium roqueforti* та встановлення оптимального складу поживного середовища для формування високоякісного інокуляту, придатного для використання у технології виробництва сирів типу «Рокфор».

Для досягнення зазначеної мети були поставлені наступні завдання:

- оцінити біотехнологічні властивості, а саме протеолітичну, ліполітичну та амілолітичну активності комерційних штамів *P. roqueforti*;
- визначити морфофізіологічні особливості росту та спороутворення грибів на середовищах із різним складом;
- скласти пропоновану технологічну схему виробництва сиру типу «Рокфор» з використанням найоптимальнішого за досліджуваними показниками штамів *P. roqueforti*;

- провести органолептичну оцінку виготовленого сиру;
- розрахувати економічну ефективність використання поживних середовищ у промислових умовах.

У результаті проведених експериментів встановлено, що найоптимальнішим для подальшого виробництва сиру типу «Рокфор» є штам №3, який поєднує помірну протеолітичну активність (3,9 IU/мл) із високою ліполітичною здатністю (1,018 IU/мл); найвищу біологічну продуктивність забезпечує пептонно-лактозне середовище (PLA), на якому досягнуто максимальний вихід спор (270,3 млрд спор/л) при мінімальній собівартості їх отримання (0,20 грн/млрд спор). Було запропоновано і складено технологічну схему виробництва сиру з використанням вищезазначеного штаму *P. roqueforti* та після органолептичної оцінки продукту встановлено, що сир має збалансовану текстуру, типовий аромат і смак.

Результати досліджень було представлено на 5-й Міжнародній науково-практичній конференції «Scientific Exploration: Bridging Theory and Practice» та опубліковані в закордонному виданні. Данилюк М., Юлевич О. Вплив різних поживних середовищ на ріст і розвиток цвілевого гриба *Penicillium roqueforti* – основного мікроорганізму сирів з блакитними прожилками. Collection of Scientific Papers with the Proceedings of the 5th International Scientific and Practical Conference «Scientific Exploration: Bridging Theory and Practice» (October 20-22, 2025. Berlin, Germany). European Open Science Space, 2025. 297 p. <https://doi.org/10.70286/eoss-20.10.2025.001> (додаток А).

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ВЖК – вільні жирні кислоти;

ГДК – гранично допустима концентрація;

ДБН – державні будівельні норми;

ДСТУ – Державний стандарт України;

ЗІЗ – засоби індивідуального захисту;

НПАОП – нормативно-правовий акт з охорони праці;

НС – надзвичайна ситуація;

ПрАТ – приватне акціонерне товариство;

СДОР – сильнодіючі отруйні речовини;

УКХ – ультракороткі хвилі;

ANOVA – *англ.* Analysis of Variance, дисперсійний аналіз;

a_w – активність води, *англ.* water activity;

CD – *англ.* Colony Diameter, діаметр колонії;

CSSA – *англ.* Cheese Semi-Synthetic Agar, сирне напівсинтетичне середовище;

CZA – *англ.* Czapek-Dox Agar, середовище Чапека-Докса;

НАССР – *англ.* Hazard Analysis and Critical Control Points, система аналізу ризиків, небезпечних чинників і контролю критичних точок;

HEPA – *англ.* High Efficiency Particulate Air, вискоєфективне утримання часток;

ISO – *англ.* International Organization for Standardization, Міжнародна організація зі стандартизації;

IU – *англ.* International Unit, міжнародна одиниця активності ферменту;

MEA – *англ.* Malt Extract Agar, агар на основі солодового екстракту;

PBS – *англ.* Phosphate-Buffered Saline, фосфатно-сольовий буфер;

PDA – *англ.* Potato Dextrose Agar, картопляно-декстрозний агар;

PLA – *англ.* Peptone-Lactose Agar, пептонно-лактозний агар;

ZD – *англ.* Zone Diameter, діаметр зони гідролізу.

ВСТУП

Сучасна молочна промисловість є однією з найважливіших галузей харчової індустрії, де розвиток біотехнологій відіграє ключову роль у формуванні якості та безпечності продукції. Серед усіх напрямів особливе місце займає виробництво сирів з пліснявою, які поєднують багатовікові традиції сироваріння з інноваційними підходами до керування мікробіологічними процесами. Ці продукти є не лише високоякісним елементом гастрономічної культури, але й прикладом складних біотехнологічних систем, де взаємодіють різні мікроорганізми, ферменти та фізико-хімічні фактори середовища [44].

Особливу увагу науковців привертає група сирів типу Рокфор, для яких ключовим мікроорганізмом є *Penicillium roqueforti*. Саме цей вид визначає характерні органолептичні властивості продукту, такі як пікантний аромат, м'яку текстуру, специфічне забарвлення та збалансований смак. Фізіологічна унікальність *P. roqueforti* полягає у його здатності до активного ліполізу та протеолізу навіть за низьких температур і високої вологості, що робить його незамінним компонентом біотехнологічних процесів дозрівання сирів [43].

Разом із тим, сучасний стан вивчення *P. roqueforti* свідчить про існування низки невирішених питань. Попри значний прогрес у розшифруванні геному та описі основних ферментативних каскадів, залишається недостатньо дослідженим вплив поживних середовищ на морфофізіологічні властивості гриба – ріст, спороутворення, накопичення біомаси та продукцію ферментів. Більшість наявних робіт фокусуються на кінцевих етапах сирного дозрівання, тоді як етап формування високоякісного інокуляту для промислового використання залишається поза увагою [63, 66].

Таким чином, актуальність дослідження полягає у необхідності наукового обґрунтування оптимальних умов культивування та використання штамів *Penicillium roqueforti* для підвищення стабільності біотехнологічних процесів у виробництві сирів типу Рокфор, що має важливе значення не лише

для забезпечення високої якості продукту, але й для зниження мікробіологічних ризиків, зменшення технологічних втрат і підвищення конкурентоспроможності українських виробників на європейському ринку.

Метою роботи є дослідження біотехнологічних властивостей та впливу складу поживних середовищ на морфологічні показники грибів *Penicillium roqueforti* та визначення умов, які забезпечують максимальну ферментативну активність і стабільність росту культури, необхідну для оптимізації процесу виробництва сирів з пліснявою.

Наукова новизна полягає у комплексному підході до оцінки впливу поживних середовищ на морфологічні, фізіологічні та ферментативні властивості *P. roqueforti*. У роботі вперше для українського сироваріння встановлено закономірності зміни ростових параметрів гриба залежно від складу середовища з використанням молочних компонентів. Отримані результати розширюють наукові уявлення про біотехнологічний потенціал *P. roqueforti* та можуть бути використані для розроблення удосконалених технологій дозрівання сирів типу Рокфор із покращеними органолептичними властивостями та підвищеною мікробіологічною стабільністю.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Загальна характеристика сирів з пліснявою

Історія розвитку технології сирів з пліснявою є яскравим прикладом еволюції харчової науки: від випадкового заселення спонтанною мікрофлорою в печерах до суворо контрольованих біотехнологічних процесів на автоматизованих заводах. Аналіз сучасних наукових джерел дозволяє стверджувати, що сири цієї групи займають унікальну нішу в молочній промисловості. Їхня специфіка полягає у формуванні складної мікробіологічної екосистеми, де грибковий метаболізм не просто доповнює, а радикально змінює структуру та органолептику сирної маси [42].

У фундаментальних працях закордонних вчених, зокрема Fox et al. [44], класифікація сирів з пліснявою базується на способі інокуляції та розвитку міцелію. Автори наголошують, що це не просто різні сорти, а принципово відмінні біохімічні реактори. Детальний аналіз літератури дозволяє виділити специфічні механізми дозрівання, що визначають технологічні стратегії для двох основних груп.

До першої групи, сирів з поверхневою пліснявою (рис. 1), належать сорти Брі, Камамбер, Ньошатель. Домінуючим агентом тут є цвілевий гриб виду *Penicillium camemberti* (або *P. candidum*), що формує характерний білий міцеліальний покрив, часто у тісному симбіозі з дріжджоподібним грибом *Geotrichum candidum*. Як зазначають дослідники [41], ключовим процесом для цієї групи є доцентрове дозрівання. Міцелій, що щільно вкриває поверхню, активно метаболізує лактат (молочну кислоту), що призводить до підвищення рН на кінці з 4,6 до 7,0 і вище. Цей градієнт рН стимулює активність нейтральних протеаз, які мігрують у центр головки. Саме цим пояснюється феномен розм'якшення тіста: не розпад жиру, а глибокий гідроліз казеїнового матриксу перетворює текстуру з «крихкої кисломолочної» на «пластичну

маслянисту». Науковці вказують на технологічний ризик: якщо процес не зупинити вчасно, надмірний протеоліз призводить до появи аміаку та розрідження тіста [42].



Рис. 1. Сир з поверхневою (білою) пліснявою [18]

Друга група представлена сирами з внутрішньою пліснявою (рис. 2), такими як Рокфор, Горгонзола, Стілтон, Данаблю. Тут розвиток гриба *Penicillium roqueforti*, – основного мікроорганізму даних видів сирів, відбувається у каналах та порожнинах всередині сиру [42].



Рис. 2. Сир з внутрішньою (блакитною) пліснявою [16]

Parademas and Bintsis [53] акцентують увагу на необхідності створення мікроаерофільних умов. Технологія передбачає нещільне формування зерна та механічне проколювання головок голками для доступу кисню. У цій групі домінуючим біохімічним вектором є ліполіз. Грибні ліпази *P. roqueforti* є значно активнішими за бактеріальні; вони вивільняють жирні кислоти, які згодом окислюються до метилкетонів (2-гептанон, 2-нонанон). Саме ці сполуки відповідають за характерний гострий, пряний аромат та смак, який в літературі описують терміном «пікантний».

Важливим аспектом, який часто недооцінюють у загальних оглядах, є роль бактеріальних заквасочних культур, що створюють передумови для розвитку плісняви. Згідно з даними Bintsis [39], вибір молочнокислих бактерій є критичним етапом. Для сирів типу Камамбер зазвичай використовують мезофільні культури, таких як *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* та *cremoris*, завданням яких є швидке зниження рН до 4,6-4,7, що сприяє відділенню сироватки та пригніченню небажаної мікрофлори до моменту, поки пліснява не почне свою дію. Для блакитних сирів часто застосовують гетероферментативні культури, зокрема, *Leuconostoc* або *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*. Їхня здатність продукувати CO₂ є технологічно необхідною для розпушення сирного тіста та утворення «вічок», в яких згодом розвиватиметься міцелій *P. roqueforti*. Дослідження Kamiları et al. [85] також підкреслюють синергію між заквасками та дріжджоподібними грибами, такими як *Geotrichum candidum*, які виступають «містком», готуючи субстрат та запобігаючи розвитку гіркоти.

Науковий інтерес останніх років змістився від простого опису змін до вивчення молекулярних механізмів формування смаку та аромату. Cantor et al. [41] детально описують ліполітичний каскад трансформації ліпідів. На відміну від твердих сирів, де ліполіз часто вважається дефектом, у блакитних сирах це бажаний процес, де ступінь гідролізу жиру може досягати 20-30% вільних жирних кислот. Критичним моментом є баланс між вивільненням коротколанцюгових кислот та їх окисненням до кетонів. Порушення цього

балансу, як зазначається в оглядах, призводить до дефекту «мильного» смаку. У сирах з білою пліснявою важливим є контроль деградації α_{S1} -казеїну. Дослідження показують, що саме ступінь розпаду цього білка корелює з текучістю сирної маси. Сучасна наука шукає шляхи керування цим процесом через підбір штамів з різною протеолітичною активністю. Фундаментальним процесом для обох груп сирів є метаболізм лактату: пліснява використовує молочну кислоту як джерело вуглецю, що призводить до підвищення рН, необхідного для дії ферментів дозрівання, але водночас знижує кислотний бар'єр для патогенів [42].

Аналіз літературних даних свідчить, що сири з пліснявою вирізняються специфічною харчовою цінністю, зумовленою глибокими ферментативними перетвореннями макронутрієнтів. За даними Fox et al. [44], вміст білка у пліснявих сирах коливається в межах 20-25%, проте ключовою характеристикою є ступінь гідролізу білків. Під дією екзопротеаз *Penicillium* до 30% казеїну розщеплюється до пептидів та вільних амінокислот, що суттєво підвищує біологічну цінність продукту. Високий вміст жиру (до 50-60% у сухій речовині) робить ці сири енергетично цінним продуктом, а наявність коротколанцюгових жирних кислот сприяє кращому емульгуванню та засвоєнню жирів організмом [57]. Окрему увагу дослідники приділяють здатності плісняви синтезувати вітаміни групи В. Встановлено, що концентрація ніацину та рибофлавіну у кірці сирів з білою пліснявою та у «вічках» блакитних сирів є вищою, ніж у вихідному молоці [78].

Питання мікробіологічної стабільності сирів з пліснявою розглядається як одне з найбільш складних, оскільки високий рН на поверхні та вологість створюють сприятливі умови не лише для культурної плісняви, а й для патогенів. Нумеру et al. [49] у своєму дослідженні наголошують, що сири з м'якою кіркою входять до групи підвищеного ризику щодо *Listeria monocytogenes*. Сучасна стратегія «біозахисту» передбачає використання штамів молочнокислих бактерій або конкурентних дріжджів, які пригнічують ріст лістерій. Також Rodrigues et al. [51] піднімають проблему біорізноманіття

грибів та контролю «дикої» мікофлори, оскільки спонтанна контамінація може призвести до накопичення мікотоксинів. Ще одним дискусійним питанням є зниження вмісту солі, яка є ключовим регулятором активності води (a_w). Дослідження показують, що просте зменшення солі у блакитних сирах призводить до появи гіркоти та розвитку дефектної слизової мікрофлори, що змушує технологів шукати компромісні рішення [84].

Технологія сирів з пліснявою є складною багатофакторною системою. Сучасна наука відійшла від емпіричного підходу і зосереджена на тонкому керуванні ферментативними каскадами (ліполіз/протеоліз) та мікробіологічною конкуренцією. Залишається актуальним пошук технологічних рішень, які б дозволили гарантувати мікробіологічну безпечність (особливо щодо лістеріозу) та стабільність текстури без втрати типового смакового профілю [70].

1.2. Особливості технології виробництва пліснявих сирів

Виробництво сирів з пліснявою є одним із найбільш складних та наукомістких процесів у молочній промисловості, що вимагає прецизійного керування біотехнологічними параметрами на кожному етапі технологічного ланцюга. Стабільність якості готового продукту закладається ще на етапі підготовки молочної сировини, де ключову роль відіграють процеси нормалізації та відновлення сольової рівноваги. Згідно з технологічними вимогами, описаними Papademas and Bintsis [53], молоко для виробництва сирів з пліснявою підлягає обов'язковій нормалізації за вмістом жиру для забезпечення типової м'якої консистенції, після чого проводиться пастеризація. Найбільш поширеним режимом теплової обробки є нагрівання до температури 72-74°C з витримкою 15-20 с. Хоча цей режим ефективно знищує патогенну мікрофлору, він неминуче призводить до певних фізико-хімічних змін у системі молока, зокрема до часткової денатурації сироваткових білків та переходу розчинних солей кальцію у нерозчинний

стан. Таке порушення мінерального балансу суттєво погіршує сичужне згортання, призводячи до утворення дряблого згустку та значних втрат казеїну і жиру з сироваткою. Для нівелювання цього негативного ефекту сучасна технологія передбачає обов'язкове внесення хлориду кальцію. Дослідники наголошують, що дозування цієї солі в межах 10-20 г на 100 кг молока є критичним фактором, який дозволяє відновити структуру казеїнових міцел, сформувати міцні кальцієві містки між ними та скоротити час коагуляції, що є фундаментом для отримання щільного гелю, здатного утримувати вологу, необхідну для подальшого розвитку плісняви [47].

Наступним визначальним етапом є створення специфічного мікробіологічного консорціуму шляхом внесення бактеріальних та грибкових культур. Специфіка інокуляції суттєво відрізняється залежно від виду сиру і базується на принципах синергії між молочнокислими бактеріями та пліснявою. Для виробництва блакитних сирів спори *Penicillium roqueforti* вносять безпосередньо у підготовлене молоко (у кількості 10^9 - 10^{10} спор/т) одночасно з мезофільними молочнокислими бактеріями (штами *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc*). Bintsis [39] зазначає, що така стратегія «спільного старту» дозволяє грибковим спорам рівномірно розподілитися по всій масі згустку ще до формування сирного зерна. У випадку ж виробництва сирів типу Камамбер з поверхневою пліснявою, окрім прямого внесення в молоко, широко застосовується метод розпилення суспензії спор *Penicillium camemberti* (часто в комбінації з *Geotrichum candidum*) на поверхню вже сформованих та посолених головок [46]. Це дозволяє створити високу концентрацію інокулюму саме там, де розвиток міцелію є технологічно необхідним – на кірці. Важливо відзначити, що первинна активність молочнокислих заквасок є критичною для підготовки субстрату: швидке зниження рН до ізоелектричної точки казеїну (4,6-4,7) не лише сприяє синерезису, але й пригнічує розвиток сторонньої мікрофлори до моменту, поки пліснява не увійде в фазу активного росту. Для блакитних сирів окремою критичною операцією, яку детально описують Caron et al. [81], є механічне проколювання головок голками на 7-10

добу після виготовлення. Ця маніпуляція є безальтернативною, оскільки *P. roqueforti* є облигатним аеробом, і без доступу атмосферного кисню всередину щільної сирної маси розвиток характерних блакитних прожилок є неможливим.

Не менш важливим фактором керування біотехнологічними процесами є соління сиру, який виконує роль не лише смакової добавки, а й потужного регулятора активності води та селективного агента для мікробіоти. У сучасному виробництві застосовують як соління в розсолі, так і сухий посол, проте для елітних сортів пліснявих сирів перевага віддається останньому. López González et al. [60] у своєму дослідженні довели, що натирання поверхні сухою сіллю (часто у кілька етапів протягом кількох діб) забезпечує більш поступову дифузію солі всередину головки та формування градієнта концентрації, що є сприятливим для розвитку *Penicillium*.

Оптимальна концентрація солі для більшості блакитних сирів становить 3-5%, що дозволяє знизити активність води до рівня 0,92-0,96. Цей діапазон є летальним або бактеріостатичним для більшості гнильних бактерій та патогенів, але залишається комфортним для галотолерантних пліснявих грибів, забезпечуючи їх домінування у мікробній екосистемі продукту. Порушення режимів соління, зокрема надмірне зниження вмісту солі у спробах створити «здоровіші» продукти, несе високі ризики: це може призвести до неконтрольованого протеолізу, появи гіркоти та розвитку дефектної слизової мікрофлори, що підтверджується численними експериментальними даними [60, 84].

Процес дозрівання є кульмінацією технологічного процесу, під час якого під впливом ферментативних систем гриба формується остаточний профіль продукту. Умови дозрівання, а саме температура, відносна вологість, швидкість руху повітря, суворо регламентуються і є специфічними для кожної групи сирів. Для сирів з білою пліснявою зазвичай підтримують температуру в діапазоні 10-14°C та відносну вологість повітря в межах 85-90%. Науковці застерігають, що відхилення від цих параметрів має фатальні наслідки:

підвищена вологість стимулює надмірний ріст міцелію (так званий дефект «жаб'ячої шкіри») та розвиток бактерій *Brevibacterium linens* (поява небажаного помаранчевого забарвлення та запаху), тоді як знижена вологість призводить до пересихання кірки та припинення ферментативної активності цвілевого гриба. Для блакитних сирів режими є дещо іншими: температура зазвичай нижча (8-10°C), а вологість вища (90-95%), що необхідно для запобігання висиханню каналів проколів та забезпечення рівномірного розвитку міцелію всередині головки. Саме на цьому етапі відбувається складна біохімічна трансформація компонентів молока: активний ліполіз призводить до накопичення вільних жирних кислот та їх окислення до метилкетонів, що формують специфічний гострий аромат, а протеоліз забезпечує розм'якшення текстури [44, 83].

Завершальним етапом, який покликаний зберегти досягнуту якість та забезпечити безпечність продукту до моменту споживання, є пакування. Особливістю сирів з пліснявою є те, що вони залишаються «живими» біологічними системами протягом усього терміну зберігання, продовжуючи споживати кисень та виділяти вуглекислий газ, вологу і тепло. Це накладає специфічні вимоги до пакувальних матеріалів. У дослідженні [44] наголошують на категоричній неприпустимості використання для таких сирів традиційних бар'єрних вакуумних плівок. Герметизація призводить до створення анаеробних умов, що викликає швидке відмирання аеробної плісняви, активацію небажаних анаеробних процесів та накопичення аміаку внаслідок глибокого розпаду білків, що робить продукт непридатним до споживання. Сучасна індустрія переходить на використання «дихаючих» матеріалів із селективною газопроникністю, таких як мікроперфоровані полімерні плівки, пергамент зі спеціальним покриттям або комбіновані матеріали [48, 75, 82]. Yildirim et al. [33] вказують на перспективність впровадження активного пакування, яке може містити поглиначі надлишкової вологи або антимікробні агенти природного походження, що дозволяє подовжити термін придатності продукту, стабілізувати його текстуру та

запобігти вторинній контамінації, не порушуючи при цьому життєдіяльності корисної мікрофлори.

Отже, виробництво пліснявих сирів є складною багатофакторною системою, де кожен параметр – від мінерального складу молока до проникності пакувальної плівки – є взаємозалежним і критично важливим для отримання високоякісного та безпечного продукту.

1.3. Характеристика грибів виду *Penicillium roqueforti*

Гриби виду *Penicillium roqueforti*, згідно систематичного положення, належать до царства *Fungi*, відділу *Ascomycota*, класу *Eurotiomycetes*, родини *Aspergillaceae*, роду *Penicillium* та є ключовими мікроорганізмами для формування біохімічних, органолептичних і текстурних характеристик блакитних сирів [61].

Морфологічно *P. roqueforti* являє собою нитчастий гриб, що утворює розгалужений септований міцелій (рис. 3). Його репродуктивні структури – конідієносці – мають характерну для роду пензликподібну будову, на кінцях яких формуються ланцюжки одноклітинних конідій. Саме пігментація конідій, яка варіює від блідо-зеленого до темно-синього кольору, зумовлює характерний вигляд «мармуровості» готового продукту. Дослідження морфогенезу гриба показують, що діаметр колоній на середовищі Чапека-Докса за оптимальних умов росту може досягати 3-5 см протягом 7-10 днів [40, 74]. Фізіологія дихання *P. roqueforti* є однією з найбільш адаптивних серед еукаріотів. Хоча гриб є облігатним аеробом, він демонструє унікальну толерантність до мікроаерофільних умов. Дослідження газообміну показують, що цей вид здатний активно вегетувати при концентрації кисню менше 5% та надзвичайно високому вмісті вуглекислого газу (до 20-25%). Така фізіологічна стійкість є еволюційним пристосуванням до розвитку в замкнутих порожнинах сирного тіста, де газове середовище формується за рахунок метаболізму молочнокислих бактерій [58].

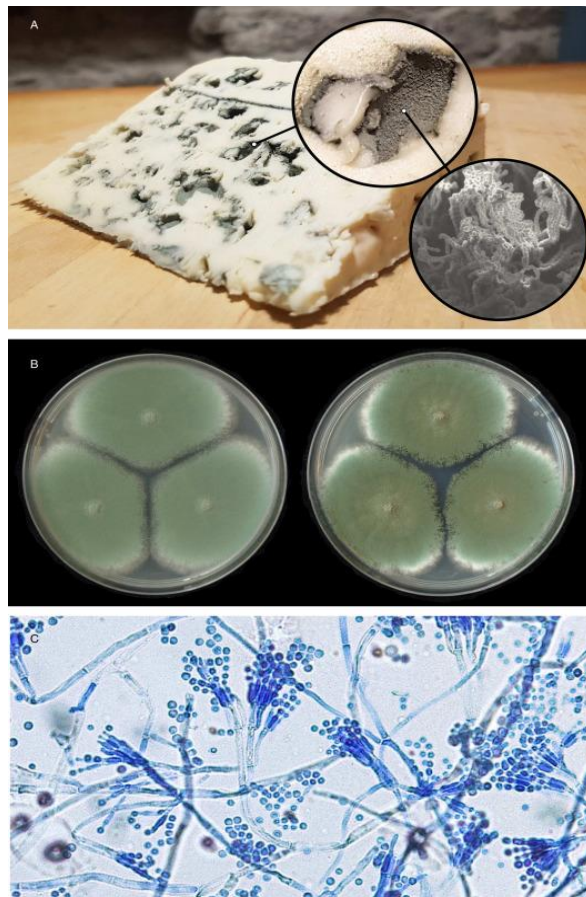


Рис. 3. Морфологія грибів виду *Penicillium roqueforti* [72]

Температурний профіль *P. roqueforti* характеризує його як психротрофний організм. Оптимум росту знаходиться в діапазоні 20-25°C, проте ферментативна активність зберігається навіть при температурах близьких до 4-8°C, що є типовим режимом дозрівання сирів. Критичний аналіз літературних даних свідчить, що низькотемпературний метаболізм гриба суттєво відрізняється від метаболізму за оптимальних умов: при низьких температурах відбувається переключення біосинтетичних шляхів з нарощування біомаси на синтез екзоферментів та вторинних метаболітів, що безпосередньо впливає на органолептику продукту [74].

Окремої уваги заслуговує біохімія живлення та вплив рН середовища. Гриб виявляє здатність до активної регуляції рН субстрату. Початковий розвиток гриба відбувається в кислому середовищі за рН 4,6-4,8, створеному стартовою закваскою молочнокислих бактерій. На цьому етапі основним

джерелом вуглецю для гриба виступає не лише залишкова лактоза, а й лактат, який є продуктом метаболізму бактерій. Споживання лактату та дезамінування амінокислот (з вивільненням аміаку) призводить до поступового олузнення середовища до рН 6,0-6,5. Цей процес, відомий як «нейтралізація», є ключовим фізіологічним маркером дозрівання, оскільки саме підвищення рН активує ряд протеолітичних ферментів гриба і робить консистенцію сиру м'якою та маслянистою. Регуляція вторинного метаболізму гриба включає продукування метилкетонів, спиртів, естерів, лактатів, піразинів та потенційно небажаних мікотоксинів (рохфортин С, PR-токсин та інші) [43]. Геномні дані виявляють кластери генів, що кодують ці метаболіти, а також промотори і послідовності *cis*-регуляторів, зокрема промоторні ділянки для генів *prx1*, *rptC*, *rorA* та *rptB*, що контролюють експресію ферментів ліполізу та синтез мікотоксинів. Експресія генів, відповідальних за синтез метилкетонів, залежить від наявності кисню, ліпідного складу субстрату, рН і концентрації органічних кислот [73].

Ензиматична система *P. roqueforti* є потужним біологічним інструментом, що складається з позаклітинних ліпаз та протеаз. Сучасна наука розглядає ліполіз як домінуючий біохімічний процес у фізіології цього виду. На відміну від багатьох інших пліснявих грибів, ліпази *P. roqueforti* мають високу специфічність до жирних кислот з середньою довжиною ланцюга. Метаболізм жирних кислот відбувається шляхом β -окислення, яке в умовах сирного субстрату є неповним і завершується утворенням метилкетонів (2-гептанон, 2-нонанон). Саме ці леткі сполуки є біологічними сигналами завершення циклу розвитку та основними носіями аромату [63, 74].

Взаємодія гриба з іншими мікроорганізмами проявляється у конкурентних та синергетичних зв'язках з молочнокислими бактеріями, *Geotrichum candidum*, *Debaryomyces hansenii* та іншими дріжджами [40]. Оцінка внеску різних популяцій показує значення як молочнокислих бактерій, так і дріжджів [52].

Галотолерантність (стійкість до солі) – визначальна фізіологічна риса.

Гриб здатний рости при концентрації NaCl до 15% у водній фазі, що є токсичним рівнем для більшості конкурентних мікроорганізмів. Механізм цієї стійкості базується на внутрішньоклітинному накопиченні сумісних осмолітів, зокрема гліцеролу та еритритолу, які підтримують тургор клітини. Проте, аналіз останніх публікацій вказує на те, що високий осмотичний тиск є стресовим фактором, який може стимулювати експресію генних кластерів, відповідальних за синтез мікотоксинів [55, 74].

Суттєвим недоліком сучасного стану вивчення *P. roqueforti* є фрагментарність даних щодо впливу нетрадиційних субстратів на фізіологію спороутворення. Більшість досліджень зосереджено на кінцевому продукті – сирі, тоді як етап отримання інокуляту (спорової маси) залишається менш дослідженим. Відомо, що якість спор (їх енергія проростання, стійкість до ліофілізації) закладається на етапі культивування материнської культури і залежить від співвідношення C/N у середовищі. Використання стандартних лабораторних середовищ (агар Чапека, сусло-агар) не завжди дозволяє отримати фенотип, адаптований до специфічних умов сирної матриці [55, 58]. Таким чином, *P. roqueforti* – це складний біологічний об'єкт з гнучким метаболізмом, здатним адаптуватися до екстремальних умов. Проте, питання керування його фізіологічними властивостями на етапі підготовки посівного матеріалу висвітлені недостатньо, що обґрунтовує доцільність подальшого дослідження впливу складу середовищ на основі молочних компонентів на морфо-фізіологічні характеристики та біотехнологічний потенціал гриба.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ, УМОВИ І МЕТОДИКА ВИКОНАННЯ РОБОТИ

2.1. Місце та об'єкт дослідження

Приватне акціонерне товариство «Лакталіс-Миколаїв» – одна з найпотужніших і найвідоміших компаній молочної галузі України. Вона входить до складу провідної міжнародної французької групи Lactalis, світового лідера з виробництва сиру та одного з ключових гравців на світовому ринку молочної продукції. Ці зв'язки забезпечують компанії доступ до передових технологій, міжнародних стандартів якості та багаторічного досвіду переробки молочної продукції. Завдяки безперервному технологічному вдосконаленню підприємство активно впроваджує сучасні системи автоматизованого контролю якості, енергоефективні технології обробки молока та передові рішення у сфері сироваріння.

Історія сучасної компанії в Україні почалася в 1996 році, коли група Lactalis розпочала свою діяльність на українському ринку. Виробничі потужності в Миколаєві були створені на базі колишнього Миколаївського міського маслозаводу, що дозволило поєднати існуючі виробничі традиції регіону з інноваційними технологіями та французькими інвестиціями.

Основним видом діяльності компанії, згідно з офіційною класифікацією, є переробка молока, виробництво масла та сиру. Діяльність підприємства є унікальною: асортимент продукції налічує понад 200 найменувань готової продукції. Особлива увага приділяється сирній та десертній групам, які мають один з найширших асортиментів на ринку.

Продукція представлена різноманітними категоріями. Серед сирів розрізняють тверді упаковані та вагові сири, плавлені сири у блоках та у ванночках торгової марки Шостка; тверді сири ТМ «Leerdamer»; плавлені сири у ванночках, порційні та в скибочках, а також свіжі, блакитні, м'які та тверді сири ТМ «President»; тверді та свіжі сири ТМ «Galbani» - Рикота, Маскарпоне,

Моцарелла; а також блакитні сири ТМ «Societe».

Молоко представлене торговими марками Lactel (з вітаміном D 1%, безлактозне, з вітаміном D 0,5 %, з вітаміном D 2,5 % та з вітаміном А та D₃).

До молочної продукції належать сири кисломолочні, сметана, масло, вершки ТМ «President»; лактонія кефірна, закваска, ряжанка ТМ «Лактонія»; кефіри, ряжанки, глазуровані сирки, сиркова маса ТМ «Фанні»; глазуровані сирки ТМ «Дольче».

В категорію йогуртів та десертів входять аеровані десерти та муси, запіканки, питні йогурти, ложкові йогурти, десерти ТМ «Дольче»; питні та ложкові йогурти ТМ «Локомоко»; питні йогурти ТМ «Лактонія»; сирки, десерти, питні та ложкові йогурти ТМ «Фанні».

Рослинні напої представлені ТМ «Santal».

У 2010 році компанія впровадила сертифіковану систему менеджменту якості та безпечності харчових продуктів відповідно до вимог стандартів ISO та HACCP. На обох виробничих майданчиках «Лакталіс – Україна» також були запроваджені стандарти ISO 9001:2008. З метою протидії недобросовісній конкуренції та поширенню фальсифікованої продукції на молочному ринку підприємство встановило партнерські зв'язки з національними галузевими асоціаціями та міжнародними організаціями, зокрема з Європейською бізнес-асоціацією (ЕВА) та Американською торговою палатою (АСС). На сьогодні продукція «Лакталіс-Україна» постачається більш ніж до 25 країн світу. У 2017-2018 роках компанія посіла провідні позиції серед українських виробників-експортерів молочної продукції для кінцевого споживача і продовжує успішно зберігати це лідерство.

У мікробіологічній лабораторії ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв» проводилися всі етапи підготовки та дослідження штамів гриба *Penicillium roqueforti*. Лабораторія оснащена сучасним обладнанням для культивування, мікроскопії, приготування поживних середовищ та контролю стерильності, що забезпечило можливість виконання досліджень у стандартизованих умовах та

дозволило отримати достовірні та відтворювані результати для подальшого моделювання процесів дозрівання сиру типу Рокфор.

Об'єктом дослідження в лабораторії підприємства є різні штами цвілевого гриба *Penicillium roqueforti*.

Предметом дослідження є біотехнологічні властивості різних штамів *Penicillium roqueforti*, а саме протеолітична, ліполітична та амілолітична активності, при виготовленні сирів з блакитними прожилками типу Рокфор.

2.2. Методика виконання роботи

Для виробництва сиру типу Рокфор в даному дослідженні використовується коров'яче молоко. Для забезпечення мікробіологічної безпеки та стандартизації процесу коров'яче молоко піддається пастеризації – термічній обробці при температурі 65-72°C з короткою витримкою. В пастеризоване молоко перед внесенням ферменту додають розчин хлориду кальцію (CaCl_2) для компенсації ефекту погіршення здатності молока до згортання після пастеризації. Ключовим етапом підготовки коров'ячого молока для виробництва блакитного сиру є гомогенізація. Процес полягає у подрібненні великих жирових кульок молока шляхом пропускання його під високим тиском через вузький отвір.

Виробництво сиру та підготовку молока здійснювали згідно з чинними нормативними документами:

- ДСТУ 8027:2015 «Сири з пліснявою. Загальні технічні умови» [10];
- ДСТУ 2212:2003 «Молочна промисловість. Виробництво молока та кисломолочних продуктів. Терміни та визначення понять. Зміна № 2» [6];
- ДСТУ 3662:2018 «Молоко-сировина коров'яче. Технічні умови» [7];
- ДСТУ 4834:2007 «Молоко та молочні продукти. Правила приймання, відбирання та готування проб до контролювання» [8];

- ДСТУ 7357:2013 «Молоко та молочні продукти. Методи мікробіологічного контролювання» [9];
- ДСТУ ISO 707:2002 «Молоко та молочні продукти. Настанови з відбирання проб (ISO 707:1997, IDT)» [14].

Дослідження біотехнологічних властивостей *Penicillium roqueforti* при виготовленні сиру виконували за схемою, зображеною на рис. 4. Для цього було відібрано чотири комерційні штами *Penicillium roqueforti*. Культури відібраних штамів підтримуються та зберігаються в умовах мікробіологічної лабораторії ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв».

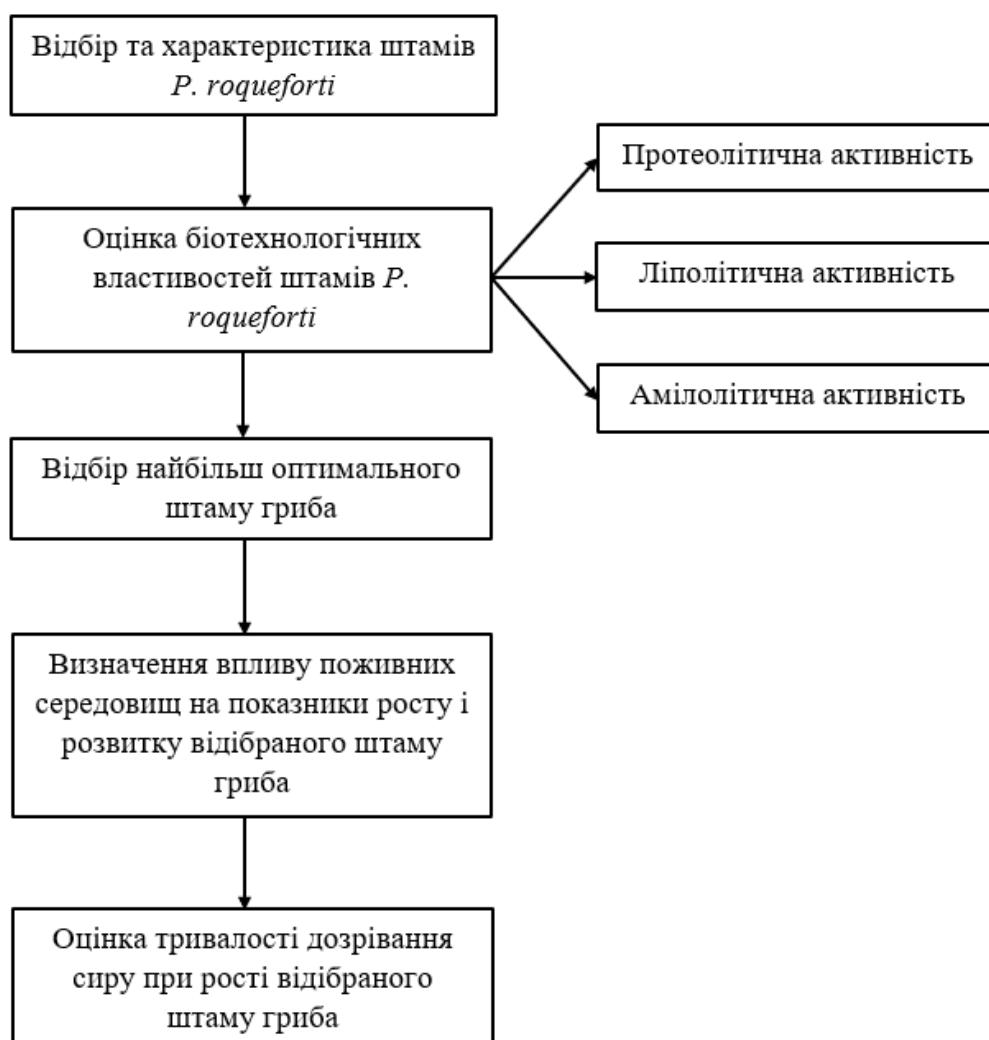


Рис. 4. Схема дослідження біотехнологічних властивостей *Penicillium roqueforti* при виготовленні сиру

Вибір штамів ґрунтувався на результатах попереднього скринінгу, який виявив значну фенотипову різноманітність. Для поглибленого аналізу було обрано чотири штами, що демонструють контрастні технологічно значущі властивості, які виходять за межі лише ферментативної активності, з метою оцінки їхнього комплексного потенціалу для сироваріння.

Для оцінки специфічних ферментативних активностей використовували диференційно-діагностичні поживні середовища, що містять відповідні субстрати.

Протеолітична активність. Для якісної оцінки використовували агар на основі солодового екстракту (МЕА), доповнений 10% стерильного знежиреного молока. Казеїн молока слугував субстратом для протеаз.

Амілолітична активність. Для якісного визначення застосовували агаризоване середовище, що містило розчинний крохмаль як єдине джерело вуглецю.

Ліполітична активність. Для якісного аналізу використовували агар з Твін-80, який є стабільним субстратом для ліпаз. Для кількісного визначення застосовували середовище, що містило емульговану оливкову олію.

Для всіх кількісних аналізів готували стандартизовану суспензію спор. Спори змивали з поверхні 6-добових культур, вирощених на агаризованому середовищі, стерильним розчином. Концентрацію спор доводили до 10^8 спор/мл за допомогою камери Горяєва.

Визначення протеолітичної активності виконували за методикою Doğan et al. [45]:

- *Якісний метод.* Культури грибів точково інокулювали на поверхню середовища МЕА з 10% знежиреного молока. Чашки Петрі інкубували при температурі 27-30°C протягом 72 годин. Наявність протеолітичної активності визначали за утворенням прозорої зони (гало) навколо колонії, що свідчить про гідроліз казеїну. Індекс активності розраховували як відношення діаметра зони гідролізу (ZD) до діаметра колонії (CD).

- *Кількісний метод.* Стандартизовану суспензію спор інкубували з казеїновим субстратом при температурі 37°C протягом 20 хвилин. Активність, що виражається у вивільненні тирозину в результаті гідролізу казеїну, визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 660 нм. За одну одиницю (U) активності приймали таке збільшення оптичної густини, що відповідає 0,001 за хвилину на мілілітр суспензії.

Методика визначення ліполітичної активності [45]:

- *Якісний метод.* Культури інокулювали на поверхню агару з Твін-80 та інкубували при 27-30°C протягом 72 годин. Ліполітичну активність ідентифікували за утворенням непрозорої зони преципітації солей кальцію жирних кислот, що вивільняються, навколо колонії. Індекс активності розраховували як ZD/CD.

- *Кількісний метод.* Суспензію спор інкубували в середовищі з емульсією оливкової олії при pH 5,5 та температурі 37°C протягом 20 хвилин. Активність вимірювали на основі вивільнення р-нітрофенолу (PNF) з хромогенного субстрату (р-нітрофеніл пальмітату), що визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 404 нм.

Методика визначення амілолітичної активності [45]:

- *Якісний метод.* Культури інокулювали на крохмальне середовище та інкубували при 27-30°C протягом 72 годин. Після інкубації поверхню агару заливали розчином йоду. Амілолітичну активність візуалізували за утворенням прозорої зони гідролізу крохмалю на темно-синьому фоні. Індекс активності розраховували як ZD/CD.

- *Кількісний метод.* Стандартизовану суспензію спор інкубували з розчином крохмалю при температурі 25°C та pH 5,0. Зменшення концентрації крохмалю в реакційній суміші, що є результатом його гідролізу, вимірювали спектрофотометрично після реакції з йодом.

Після відбору найоптимальнішого за ферментативними властивостями штаму визначали вплив різних поживних середовищ на його показники росту і розвитку. Для підготовки інокуляту гриб вирощували на картопляно-

декстрозному агарі (PDA) протягом 7-10 діб при температурі 25°C. Конідії збирали шляхом змивання поверхні культури стерильним водним розчином 0,01% Твін 80, який запобігає агрегації спор. Кінцеву концентрацію спорової суспензії стандартизували за допомогою камери Горяєва (гемоцитометра) до 1×10^6 конідій/мл. Для дослідження було підготовлено чотири експериментальні агаризовані середовища. Всі середовища стерилізували автоклавуванням при 121°C протягом 15 хвилин. Початкове значення рН було доведено до $5,6 \pm 0,1$. Склад середовищ наведений у таблиці 1. Даний етап експерименту виконували згідно з методикою [37].

Таблиця 1

Склад досліджуваних поживних середовищ для культивування

Penicillium roqueforti

№	Компонент (г/л)	Середовище			
		Картопляно- декстрозний агар (PDA)	Чапека- Докса (CZA)	Пептонно- лактозний агар (PLA)	Сирне напівсинтетичне (CSSA)
1	Картопляний екстракт	20	-	-	-
2	Декстроза (глюкоза)	20	-	-	-
3	Сахароза	-	30	-	-
4	Лактоза	-	-	20	15
5	Пептон	-	-	10	-
6	Міцелярний казеїн	-	-	-	25
7	Молочна кислота	-	-	-	5
8	NaCl	-	-	-	20
9	NaNO ₃	-	2,0	-	-
10	K ₂ HPO ₄	-	1,0	1,0	-
11	MgSO ₄ ×7H ₂ O	-	0,5	0,5	-
12	KCl	-	0,5	-	-
13	FeSO ₄ ×7H ₂ O	-	0,01	-	-
14	Агар	15	15	15	15

Умови культивування та оцінка морфологічних характеристик, біомаси і спороутворення проводились за наступною методикою [59, 80]. Чашки Петрі

діаметром 90 мм, що містили 20 мл відповідного середовища, інокулювали в центрі краплею (5 мкл) стандартизованої спорової суспензії. Культивування проводили в темряві при температурі $25 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 10 діб. Діаметр колоній вимірювали у двох взаємно перпендикулярних напрямках з інтервалом у 24 години, з фіксацією ключових показників на 3, 5, 7 та 10 добу для детального аналізу. Текстуру колоній, топографію поверхні, край, а також пігментацію фіксували візуально на 3, 5, 7 та 10 добу. Інтенсивність пігментації оцінювали за якісною шкалою (наприклад, бліда, помірна, інтенсивна синьо-зелена). На 10 добу три реплікативні колонії з кожного середовища збирали, обережно відокремлюючи міцеліальний килимок від агару. Зібраний міцелій висушували при 70°C до постійної ваги, після чого визначали середню суху вагу в міліграмах (мг) згідно з [50]. З центру зрілих 10-добових колоній вирізали агаровий блок площею 1 cm^2 . Спори суспендували в 10 мл 0,01% розчину Твін 80, і їх концентрацію визначали за допомогою камери Горяєва. Результати виражали як кількість спор на 1 cm^2 поверхні колонії.

Для аналізу проростання, за методикою [77], конідії збирали з 10-добових колоній, вирощених на кожному з чотирьох середовищ. Спори двічі відмивали в стерильному фосфатно-сольовому буфері (PBS) для видалення залишків поживних речовин і ресуспендували до концентрації 1×10^5 конідій/мл у мінімальному середовищі для проростання (10 мМ глюкози в PBS, pH 5,6). Суспензії інкубували при 25°C . Щогодини відбирали аліквоти для мікроскопічного аналізу. Конідію вважали пророслою, якщо довжина її ростової трубки дорівнювала або перевищувала діаметр спори. Для кожної часової точки підраховували щонайменше 300 конідій. Кінетику проростання кількісно оцінювали за такими параметрами: лаг-фаза (λ , час до 10% проростання), час до 50% проростання (τ) та максимальний відсоток проростання (P_{max}) через 24 години.

Методика розрахунку економічної ефективності використання поживних середовищ для культивування *Penicillium roqueforti* базується на принципах оцінки ефективності біотехнологічних процесів, викладених у

праці Whitaker et al. [87], та адаптована до умов твердофазного культивування. Розрахунок здійснювали методом прямої калькуляції матеріальних витрат на приготування 1 л поживного середовища з подальшим визначенням собівартості одиниці цільового продукту за формулою:

$$C_{\text{од}} = \frac{C_{\text{л}}}{N} \times 1000 \quad (1)$$

де: $C_{\text{л}}$ – вартість 1 л середовища, грн;

N – кількість спор з 1 л середовища, млрд спор.

Для стандартизації розрахунків використано нормативи ДСТУ EN ISO 11133:2014 [11], згідно з якими для мікробіологічного контролю у чашках Петрі діаметром 90 мм об'єм середовища повинен становити 18-20 мл. У даному дослідженні прийнято розрахунковий об'єм 20 мл, що дозволяє отримати 50 чашок з 1 л середовища. Робоча площа поверхні однієї чашки (S) розрахована за формулою площі круга і становить 63,6 см².

Усі статистичні розрахунки, зокрема однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA), здійснено відповідно до загальноприйнятих методик із використанням MS Excel [1].

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Оцінка біотехнологічних властивостей штамів *Penicillium roqueforti*

Ефективність використання штамів *Penicillium roqueforti* у виробництві блакитних сирів безпосередньо залежить від їхніх біотехнологічних характеристик – насамперед протеолітичної, ліполітичної та вторинно-метаболічної активності. Саме ці процеси визначають швидкість дозрівання, формування текстури, інтенсивність аромату та стабільність сенсорного профілю готового продукту. Висока функціональна різноманітність *P. roqueforti* пояснюється генетичною диференціацією популяцій, адаптованих до різних технологічних умов, що впливає на їх здатність продукувати протеази, ліпази та вторинні метаболіти [42]. Активність ферментних систем гриба, таких як протеази, ліпази, естерази, забезпечує перетворення білків і жирів молока у широкий спектр летких і нелетких сполук, що формують характерний аромат і текстуру сирів типу Рокфор. Крім того, гриб синтезує низку вторинних метаболітів, включно з андрастинами, мікофеноловою кислотою та ряду алкалоїдів, що можуть відігравати регуляторну роль у міжвидових взаємодіях під час дозрівання сиру. Тож для аналізу біохімічної активності та метаболічних властивостей нами було обрано та досліджено чотири штами гриба, що є необхідним для встановлення їхньої технологічної придатності, прогнозування органолептичних характеристик готового продукту та оптимізації параметрів дозрівання сиру [43].

Протеолітична активність грибів *Penicillium roqueforti* є одним із найважливіших факторів, що визначають формування текстури, аромату та смаку блакитних сирів. Ферменти цієї групи – переважно кислотні, нейтральні та металозалежні протеази – каталізують гідроліз казеїнів, сприяючи утворенню пептидів і вільних амінокислот, які є попередниками ароматичних

сполук [76]. Результати кількісного та якісного аналізу протеолітичної активності обраних штамів пліснявого гриба представлені в таблиці 2.

Таблиця 2

Протеолітична активність обраних штамів *Penicillium roqueforti*

№	Штам	Показник			
		Діаметр зони (ZD), мм	Діаметр колонії (CD), мм	Співвідношення ZD/CD	Протеолітична активність (тирозин, IU/мл)
1	№1	18,0±0,9	21,0±1,1	0,86	0,03±0,01
2	№2	31,0±1,5	28,0±1,4	1,11	28,0±1,3
3	№3	25,0±1,2	21,0±1,0	1,19	3,9±0,2
4	№4	23,0±1,1	21,0±1,1	1,10	0,03±0,01

Отримані дані свідчать про значну варіабельність протеолітичної активності серед досліджених штамів гриба. Найвищу активність виявлено у штаму №2 (28,0±1,3 IU/мл), помірну – у штаму №3 (3,9±0,2 IU/мл), тоді як штами №1 і №4 мали мінімальні показники, а саме 0,03±0,01 IU/мл відповідно. Така різниця відображає генетичну та фенотипову гетерогенність виду, характерну для популяцій, адаптованих до різних середовищ. Виявлена варіабельність також може бути зумовлена різною експресією генів, що кодують протеази, а отже, відображає різний рівень регуляції ферментативних систем у межах виду [38, 58]. Висока активність штаму №2 свідчить про інтенсивний розпад α 1- і β -казеїнів, що прискорює дозрівання та формує кремову консистенцію сиру. Подібні результати описано в роботах Caron et al. [81], де активні протеази *P. roqueforti* сприяли накопиченню амінокислот – попередників ароматичних сполук. Водночас надмірний протеоліз може викликати утворення гірких пептидів і погіршення смаку, що робить штам №2 потенційно ризиковим у плані органолептичних показників. Штам №3 із помірною активністю демонструє більш збалансований протеоліз,

оптимальний для формування типового смаку та текстури блакитних сирів. Натомість низькоактивні штами №1 і №4 можуть бути придатними для тривалого дозрівання, коли повільне розщеплення білків забезпечує поступовий розвиток складного ароматичного профілю та знижує ризик накопичення небажаних сполук.

Ліполіз є одним із провідних процесів дозрівання сирів типу Рокфор, що визначає інтенсивність смако-ароматичного профілю готового продукту. У цьому процесі ферменти *P. roqueforti* розщеплюють молочні тригліцериди з утворенням вільних жирних кислот (ВЖК), які слугують субстратами для утворення летких сполук, зокрема метилкетонів, вторинних спиртів та естерів. Отримані експериментальні дані (табл. 3) свідчать про суттєву варіабельність ліполітичної активності серед досліджених штамів, що узгоджується з даними про генетичну і фенотипову неоднорідність цього виду [81].

Таблиця 3

Ліполітична активність обраних штамів *Penicillium roqueforti*

№	Штам	Показник			
		Діаметр зони (ZD), мм	Діаметр колонії (CD), мм	Співвідношення ZD/CD	Ліполітична активність (ліпаза, IU/мл)
1	№1	22,0±1,1	18,0±0,9	1,22	0,623±0,031
2	№2	20,0±1,0	18,5±0,9	1,08	0,354±0,018
3	№3	24,0±1,2	17,0±0,8	1,41	1,018±0,051
4	№4	23,0±1,2	17,5±0,9	1,31	0,457±0,023

Згідно з результатами, найвищу ліполітичну активність продемонстрував штам №3, а саме 1,018±0,051 IU/мл і співвідношення ZD/CD = 1,41, що значно перевищує активність інших ізолятів, зокрема штаму №1 (0,623±0,031 IU/мл; ZD/CD = 1,22) та №4 (0,457±0,023 IU/мл; ZD/CD = 1,31). Найнижчі показники виявлені у штаму №2 (0,354±0,018 IU/мл; ZD/CD =

1,08), який продемонстрував також найменший діаметр зони гідролізу. Такий розподіл активності може бути пов'язаний із відмінностями у рівнях експресії генів, що кодують ліпази та ефірази, а також із особливостями регуляції метаболізму ВЖК у різних популяціях *P. roqueforti* [62].

Порівняння результатів свідчить, що штами з вищою ліполітичною активністю, такі як №3 і №1 демонструють суттєво більший потенціал утворення ВЖК, особливо коротколанцюгових ($C_{4:0}$ - $C_{10:0}$), які беруть участь у біосинтезі ключових летких метилкетонів – 2-гептанону та 2-нонанону. Ці сполуки є основними компонентами аромату блакитних сирів. Водночас, штами з нижчою активністю №2 і №4 характеризуються менш інтенсивним гідролізом, що може призводити до формування більш м'якого смаку з переважанням вершкових або молочних нот. Штам №3, який показав найвищі значення як у діаметрі зони гідролізу, так і в одиницях активності, може бути класифікований як гіперліполітичний. Згідно з Cao et al. [54], подібні штами у виробництві сирів із коров'ячого молока вважаються особливо цінними, оскільки вони здатні компенсувати нижчий вміст коротколанцюгових ВЖК порівняно з козячим чи овечим молоком. При цьому вони забезпечують швидке накопичення прекурсорів ароматичних сполук на ранніх етапах дозрівання. Однак, надмірний ліполіз може призводити до небажаних ароматичних дефектів, таких як мильні або прогірклі присмаки, тому цей показник варто ретельно контролювати.

Амілолітична активність у грибів роду *Penicillium* загалом асоціюється з ферментами, що каталізують гідроліз крохмалю та пов'язаних полісахаридів, однак для *Penicillium roqueforti* вона вважається вторинною або залишковою функцією, що пояснюється екологічною пластичністю виду, здатного колонізувати як білкові, так і вуглеводні субстрати, включно із хлібними середовищами, на яких традиційно здійснювали культивуацію спор для сироваріння [64]. Результати аналізу представлені в таблиці 4 і свідчать про помірну варіабельність показників серед досліджених штамів.

Таблиця 4

Амілолітична активність обраних штамів *Penicillium roqueforti*

№	Штам	Показник			
		Діаметр зони (ZD), мм	Діаметр колонії (CD), мм	Співвідношення ZD/CD	Амілолітична активність (амілаза, IU/мл)
1	№1	19,0±1,0	17,5±0,9	1,09	0,137±0,007
2	№2	28,0±1,4	20,0±1,0	1,40	0,790±0,039
3	№3	21,0±1,1	18,0±0,9	1,17	0,115±0,006
4	№4	23,0±1,1	16,5±0,8	1,39	0,805±0,040

Найвищі значення активності виявлено у штамів №4 та №2, а саме $0,805 \pm 0,040$ IU/мл і $ZD/CD = 1,39$ та $0,790 \pm 0,039$ IU/мл і $ZD/CD = 1,40$ відповідно, тоді як штами №1 ($0,137 \pm 0,007$ IU/мл) та №3 ($0,115 \pm 0,006$ IU/мл) характеризуються мінімальними показниками. Така диференціація свідчить про різну експресію амілазоподібних ферментів, імовірно α -амілаз і глюкоамілаз, які в *P. roqueforti* можуть бути залучені до метаболізму резервних вуглеводів у клітині або до гідролізу полісахаридів рослинного походження у природному середовищі існування [74]. Високі показники амілолітичної активності штамів №2 та №4 можуть бути ознакою адаптації до субстратів із високим вмістом вуглеводів, тоді як штами з низькою активністю, а саме №1 і №3, демонструють більш спеціалізований метаболізм, спрямований на ліпідні та білкові джерела живлення, що є типовим для сирного середовища.

На основі комплексного аналізу ферментативних характеристик досліджених штамів *Penicillium roqueforti* найоптимальнішим для виробництва сиру типу Рокфор визначено штам №3. Він поєднує помірну протеолітичну активність із високою ліполітичною здатністю, що забезпечує збалансований перебіг основних біохімічних процесів дозрівання, а саме

контрольоване розщеплення білків без надмірного розм'якшення сирного тіста та активне утворення вільних жирних кислот, необхідних для синтезу метилкетонів і формування характерного аромату. Тож подальші дослідження з впливу поживних середовищ на ріст і розвиток гриба будуть зосереджені на штамі №3.

3.2. Визначення впливу поживних середовищ на показники росту і розвитку *Penicillium roqueforti*

Ріст і морфогенез *Penicillium roqueforti* значною мірою залежать від складу поживного середовища, яке визначає швидкість нарощування біомаси, інтенсивність спороутворення та активність основних метаболічних систем гриба. Вміст доступного азоту, співвідношення джерел вуглецю та азоту та концентрація мінеральних солей суттєво впливають на ріст міцелію, продукцію ферментів і синтез вторинних метаболітів. Зокрема, обмеження азоту стимулює інтенсивне спороутворення, тоді як надлишок вуглецевих джерел, навпаки, сприяє активному росту міцелію без переходу до репродуктивної фази [40]. Оптимальні співвідношення C:N забезпечують збалансований розвиток колонії, що особливо важливо для досягнення рівномірного кольору та структури сиру типу Рокфор. Крім того, джерела органічного азоту, такі як пептон, підвищують спорогенну здатність та стійкість конідій до технологічних стресів [66]. У контексті сироваріння ці параметри є критично важливими, оскільки визначають не лише життєздатність штаму під час інокуляції, але й рівномірність росту колонії в сирній масі, що безпосередньо впливає на утворення характерної прожилкової структури.

Дослідження Abbas and Dobson [32] показали, що *P. roqueforti* є відносно стійким до змін кислотності та солоності середовища, з оптимумом росту при рН 5,0-6,5 та концентрації NaCl близько 1%. Крім того, гриб характеризується низькими вимогами до кисню й здатністю активно розвиватися при

понижених температурах, що робить його унікально пристосованим до умов визрівання сирів типу Рокфор.

Зважаючи на це, нами було проведено визначення впливу поживних середовищ, різних за своїм складом, на ріст і розвиток штаму №3 досліджуваного гриба, який було обрано на попередньому етапі експерименту. Згідно з отриманими результатами дослідження, швидкість радіального росту колоній *P. roqueforti* продемонструвала виражену залежність від складу поживного середовища (рис. 5).

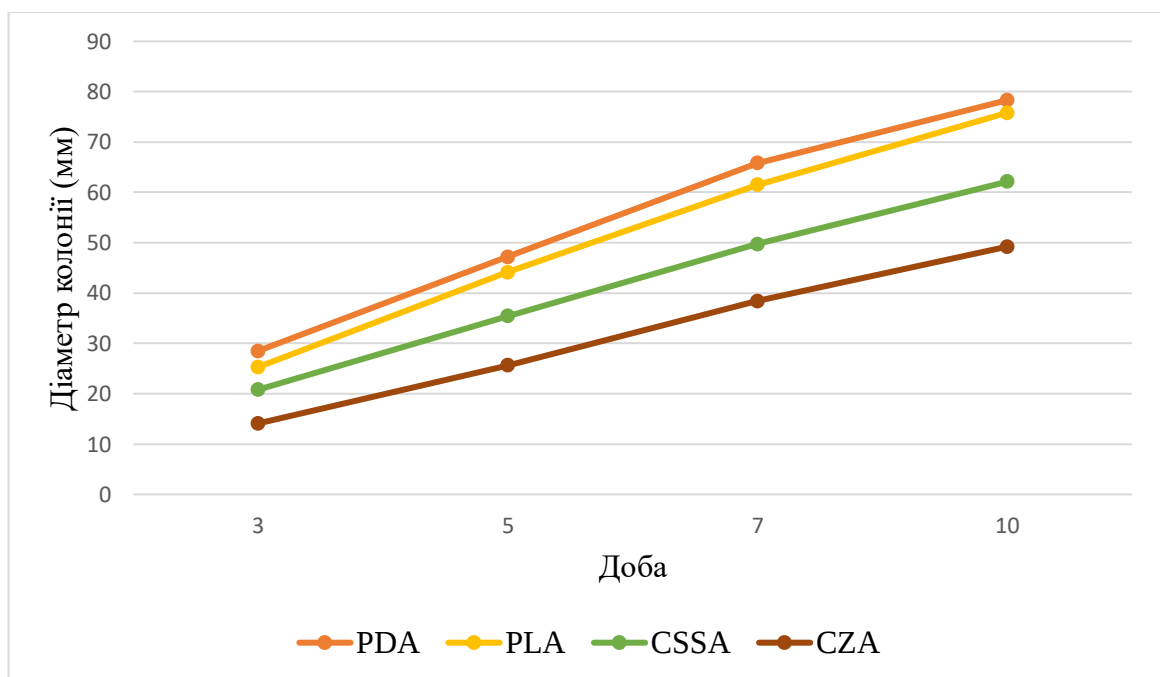


Рис. 5. Динаміка радіального росту *P. roqueforti* на чотирьох різних поживних середовищах

Найінтенсивніший ріст спостерігався на картопляно-декстрозному агарі (PDA), який є багатим на легкозасвоювані вуглеводи, амінокислоти та вітаміни. На 10 добу середній діаметр колоній на цьому середовищі досяг $78,3 \pm 2,5$ мм. Дуже близькі показники росту були зафіксовані на пептонно-лактозному агарі (PLA), де кінцевий діаметр становив $75,8 \pm 2,8$ мм, що свідчить про ефективну утилізацію лактози та пептону як джерел вуглецю та

азоту. Помітно повільніший ріст спостерігався на сирному напівсинтетичному середовищі (CSSA), де діаметр колонії на 10 добу склав $62,1 \pm 2,3$ мм. Це, ймовірно, пов'язано з вищими енергетичними затратами на синтез позаклітинних протеаз для розщеплення казеїну, а також з інгібуючим впливом високої концентрації NaCl (2%) та молочної кислоти. Найбільш суттєво ріст був пригнічений на середовищі Чапека (CZA), де кінцевий діаметр колоній ледь досягав $49,2 \pm 1,9$ мм. Це очікуваний результат, оскільки CZA є мінімальним середовищем, де гриб змушений синтезувати всі необхідні компоненти з простих неорганічних солей та сахарози, що вимагає значних метаболічних зусиль.

Окрім кількісних відмінностей у швидкості росту, культура *P. roqueforti* продемонструвала значну морфологічну пластичність, утворюючи колонії з унікальними характеристиками на кожному типі середовища (табл. 5). На PDA колонії характеризувалися швидким, експансивним ростом, формуючи щільний, оксамитовий міцеліальний килимок. Пігментація з'являлася рано (вже на 3 добу) і розвивалася до глибокого, рівномірного синьо-зеленого кольору. Реверс колоній був забарвлений у блідо-жовті або бежеві тони, що є типовим для цього гриба на стандартних середовищах. На CZA ріст був помітно обмеженим. Колонії були тоншими, з більш ниткоподібною (філаментозною) або павутиноподібною текстурою та радіальним патерном росту, особливо по краю. Спороутворення було менш щільним, а синьо-зелена пігментація – менш інтенсивною і з'являлася пізніше, ніж на PDA. Реверс залишався переважно незабарвленим. На PLA колонії були міцними та щільними, схожими на ті, що росли на PDA, але часто мали більш пухку (флокозну) або пучкову текстуру поверхні, що є відомим ефектом впливу пептону на морфологію *Penicillium*. Спороутворення було надзвичайно щільним, надаючи колонії порошкоподібного вигляду. Реверс демонстрував виразну пігментацію, часто червонуватого або коричневого відтінку. На CSSA колонії демонстрували помірний ріст, але були компактними та добре інтегрованими з середовищем. Ключовим спостереженням було утворення

ледь помітної зони просвітлення навколо колонії, що свідчить про протеоліз казеїну. Текстура була щільною, але менш оксамитовою, ніж на PDA, а синьо-зелений колір був інтенсивним, що вказує на сильну адаптацію до цього субстрату.

Таблиця 5

Морфологічні особливості *Penicillium roqueforti* на різних поживних середовищах

№	Параметр	Середовище			
		PDA	CZA	PLA	CSSA
1	Пігментація	Інтенсивна, рівномірна синьо-зелена	Помірна, плямиста синьо-зелена	Інтенсивна, темно-синьо-зелена	Інтенсивна, сіро-зелена
2	Текстура колонії	Оksamитова, щільна	Тонка, ниткоподібна, павутиноподібна	Флокозна, порошкоподібна, пучковата	Щільна, злегка зморшкувата
3	Топографія поверхні	Пласка з ледь піднятим центром	Пласка, радіальна	Піднятий центр, концентричні кільця	Центрально піднята, радіальні борозни
4	Край	Рівний, чітко окреслений	Нерівний, арахноїдальний	Рівний, з білим міцеліальним обідком	Злегка лопатевий, окреслений
5	Колір реверсу	Блідо-жовтий до бежевого	Незабарвлений	Червонувато-коричневий	Кремово-жовтий з коричневим центром

Спостережувані морфологічні відмінності не є випадковими; вони є макроскопічними проявами різних стратегій розвитку та метаболізму, які гриб застосовує при використанні кожного конкретного середовища. Оксамитовий, експансивний ріст на PDA відображає стратегію швидкого засвоєння поживних речовин та їх конверсії в біомасу в середовищі, де ресурси не є лімітуючими. Це класична стратегія «буму і спаду» (r-стратегія), спрямована на максимальне захоплення простору за сприятливих умов. Тонка, радіальна, «пошукова» морфологія на CZA є класичною відповіддю на дефіцит поживних речовин. Гриб витрачає менше енергії на формування щільних міцеліальних структур і більше – на подовження гіфів назовні для дослідження більшої площі в пошуках дефіцитних ресурсів. Флокозна текстура та надзвичайно інтенсивне спороутворення на PLA вказують на те, що специфічна комбінація лактози та пептону діє як потужний індуктор безстатевого розмноження. Пептон надає готові амінокислоти, що оминає необхідність їх синтезу *de novo* і дозволяє спрямувати ресурси безпосередньо на виробництво спор. Компактний, щільний ріст та ознаки протеолізу (зона просвітлення) на CSSA свідчать про стратегію «експлуатації». Гриб інвестує енергію у виробництво позаклітинних ферментів для розщеплення складних субстратів (казеїну), що є ключовою властивістю для його ролі в дозріванні сиру.

Продукція біомаси, виміряна як суха вага міцелію на 10 добу, та щільність спороутворення корелювали з забезпеченістю середовищ поживними речовинами (табл. 6). Найвищий вихід міцеліальної маси було досягнуто на PDA, де середня вага однієї колонії становила 215 ± 12 мг. Це підтверджує, що склад картопляного екстракту та глюкози забезпечує оптимальні умови для вегетативного росту. Високі показники були також на PLA (198 ± 15 мг/колонію) та CSSA (185 ± 11 мг/колонію), що вказує на ефективне використання лактози, пептону та казеїну. На відміну від них, середовище Чапека (CZA) забезпечило значно нижчий вихід біомаси – лише 78 ± 7 мг/колонію. Ці результати узгоджуються з дослідженням Kour et al. [35], де показано, що збагачені середовища, які містять складні джерела азоту

(наприклад, казеїнові гідролізати), дають високий вихід біомаси, тоді як мінімальні середовища з неорганічним азотом – значно нижчий.

Таблиця 6

Вплив складу поживного середовища на продукцію біомаси та щільність спороутворення *Penicillium roqueforti*

№	Середовище	Показник	
		Біомаса (суха вага міцелію), мг/колонию	Щільність спороутворення, $\times 10^7$ спор/см ²
1	PDA	215 $\pm$ 12	6,2 $\pm$ 0,5
2	PLA	198 $\pm$ 15	8,5 $\pm$ 0,6
3	CSSA	185 $\pm$ 11	5,8 $\pm$ 0,4
4	CZA	78 $\pm$ 7	2,1 $\pm$ 0,3

Цікаво, що щільність спороутворення не прямо залежала від накопиченої біомаси. Найвища щільність спор спостерігалася на пептонно-лактозному агарі (PLA), досягаючи $8,5 \times 10^7 \pm 0,6 \times 10^7$ спор/см². Це значно перевищує показники на інших середовищах. На PDA та CSSA були отримані високі, але дещо нижчі щільності спороутворення – $6,2 \times 10^7 \pm 0,5 \times 10^7$ та $5,8 \times 10^7 \pm 0,4 \times 10^7$ спор/см² відповідно. Найнижча щільність спор була зафіксована на середовищі Чапека (CZA) – $2,1 \times 10^7 \pm 0,3 \times 10^7$ спор/см², хоча візуально спороутворення на цьому середовищі починалося відносно рано, що може бути стресовою реакцією.

Кінетика проростання конідій продемонструвала значну залежність від середовища, на якому вони були утворені та свідчить про виражений вплив метаболічного стану батьківського міцелію на життєздатність спор (рис. 6). Отримані дані вказують на те, що поживне середовище визначає не лише кількісні параметри спороутворення, але й фізіологічну якість конідій, тобто рівень внутрішніх резервів, енергетичний потенціал та швидкість метаболічної активації після інокуляції.

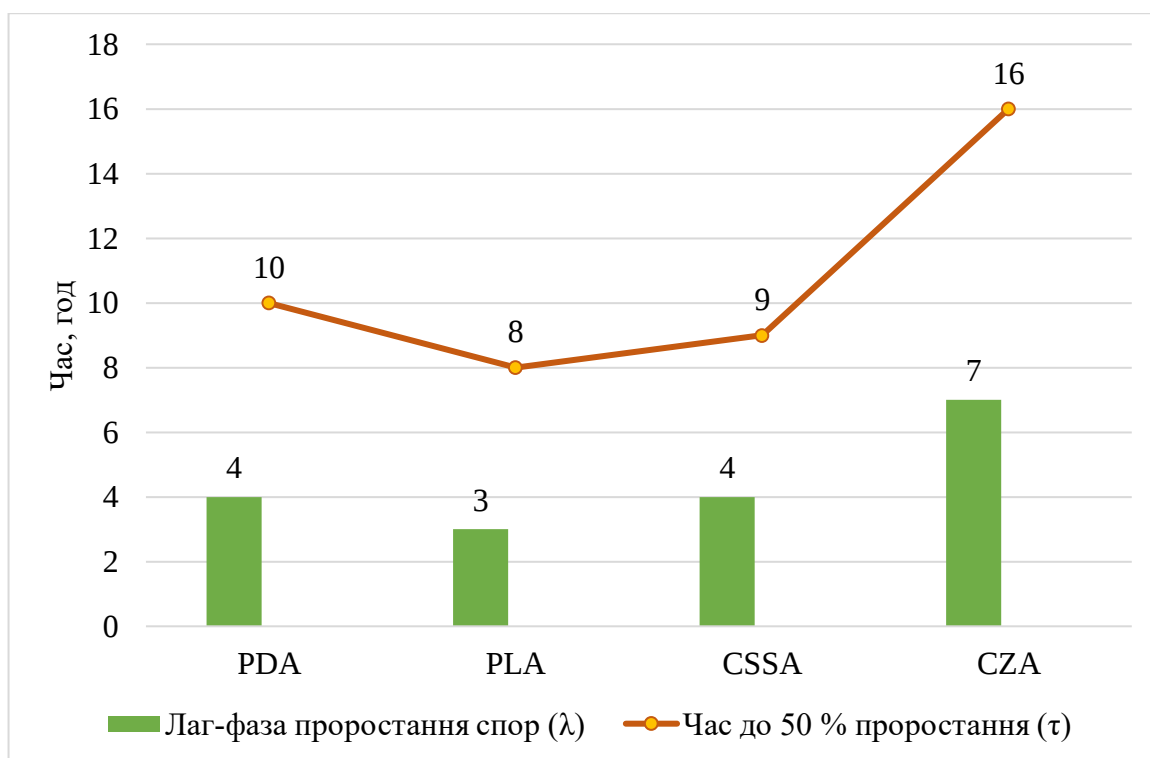


Рис. 6. Кінетика проростання спор *Penicillium roqueforti* з різних середовищ

Згідно з результатами дослідження, спори, зібрані з PLA та CSSA, показали найшвидше проростання. Вони мали коротку лаг-фазу ($\lambda \approx 3$ та 4 години відповідно) і швидко досягали 50% проростання ($\tau \approx 8$ та 9 годин відповідно). Спори з PDA також проростали швидко, але з дещо довшими показниками ($\lambda \approx 4$ години, $\tau \approx 10$ годин). Натомість спори, зібрані з бідного на поживні речовини середовища Чапека-Докса, показали значно уповільнене проростання. Лаг-фаза для них була суттєво довшою ($\lambda \approx 7$ годин), а час досягнення 50% проростання був майже вдвічі довшим, ніж для спор з повноцінних середовищ ($\tau \approx 16$ годин). Максимальний відсоток проростання ($P_{\max}$) був високим для всіх груп ($>95\%$), але для спор, отриманих з CZA, цей показник досягався значно пізніше.

Результати демонструють чіткий «материнський ефект» або «поживне попереднє кондиціонування» на життєздатність безстатевих спор. Поживний статус батьківської колонії визначає кількість та якість метаболічних резервів

(наприклад, ліпідів, трегалози, поліолів), які «запаковуються» в конідії під час їх формування.

Спори є не просто сплячими клітинами, а автономними одиницями, що містять увесь необхідний апарат та енергію для ініціації росту.

Батьківський міцелій, що росте на збагаченому, складному середовищі, такому як PLA або CSSA, може дозволити собі повноцінно забезпечити свої спори поживними речовинами. Такі спори є «добре нагодованими» і можуть швидко активувати свої метаболічні шляхи та синтезувати новий клітинний матеріал після отримання сигналу до проростання, що призводить до короткої лаг-фази та швидкої появи ростової трубки.

Батьківський міцелій на стресовому, мінімальному середовищі, як CZA, обмежений у ресурсах. Він виробляє спори як засіб виживання, але ці спори забезпечені лише мінімально необхідними резервами. Потрапивши в нове середовище, їм потрібно більше часу для відновлення клітинних компонентів, активації ферментів та початкового поглинання поживних речовин, перш ніж вони зможуть розпочати проростання, що пояснює подовжену лаг-фазу.

Це має надзвичайне біотехнологічне значення для промислового виробництва стартових культур. Метою є не просто отримання великої кількості спор, а виробництво високоякісних спор, які забезпечать швидку та рівномірну колонізацію сирного згустку.

3.3. Технологічна схема виробництва сиру типу «Рокфор»

Для виробництва сиру типу Рокфор було використано найоптимальніший штам *Penicillium roqueforti* №3, який, за результатами проведених досліджень, характеризується високою ліполітичною та помірною протеолітичною активністю. Виходячи з цього, розроблено принципову технологічну схему виробництва сиру типу Рокфор із коров'ячого молока (рис. 7), а також проведено оцінку тривалості дозрівання сиру при рості відібраного штаму гриба.

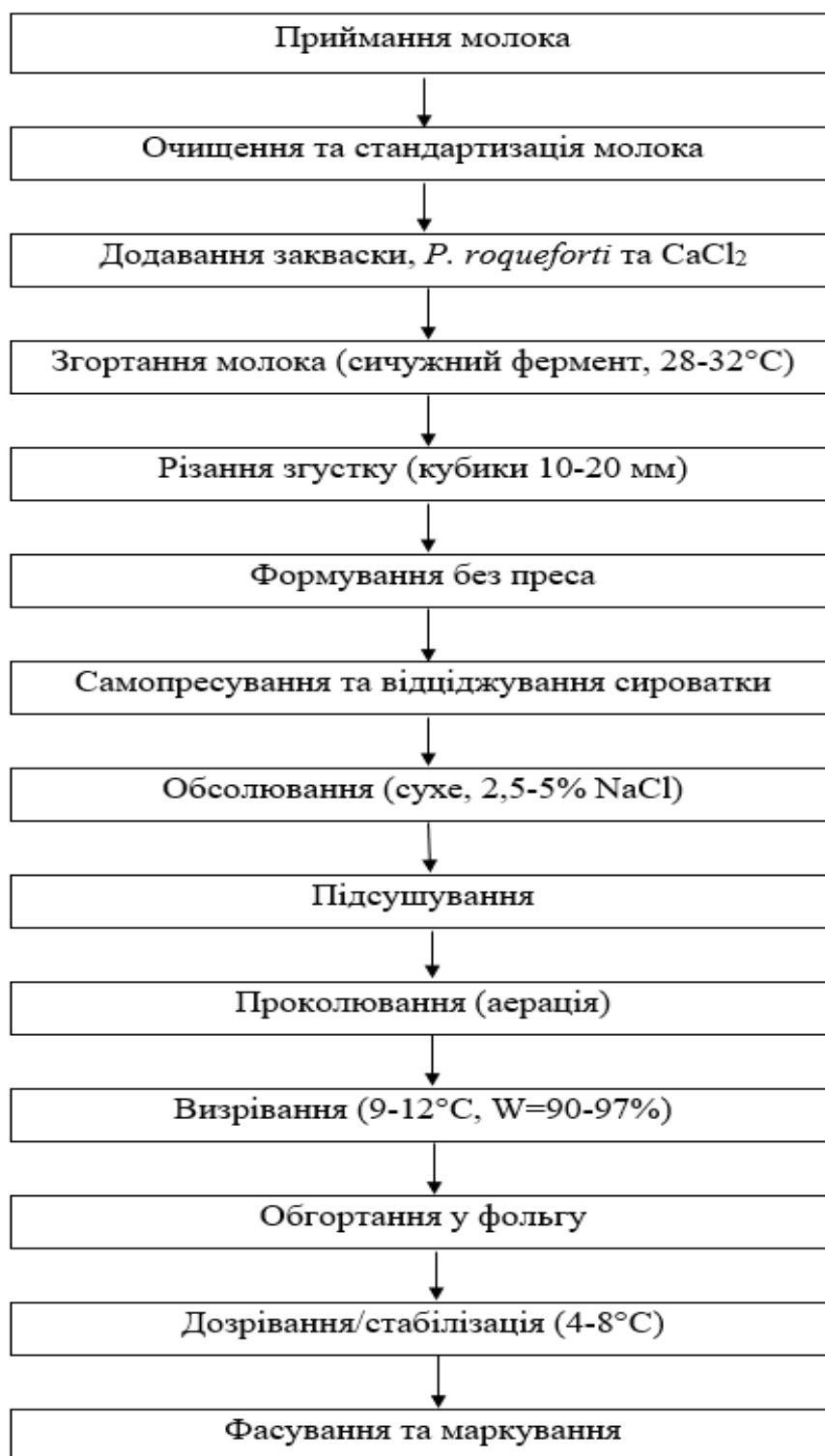


Рис. 7. Принципова технологічна схема виробництва сиру типу Рокфор

Процес виробництва розпочинається з приймання коров'ячого молока, яке проходить вхідний контроль якості за фізико-хімічними показниками та мікробіологічною безпекою.

Наступний етап – очищення та стандартизація молока. Молоко проходить очищення бактофугуванням та обов'язкову пастеризацію (при 65-72°C). Критично важливим технологічним кроком для коров'ячого молока, є гомогенізація. Ця операція руйнує мембрани жирових кульок, збільшуючи їх загальну площу поверхні у 6-20 разів. Після цього проводиться нормалізація (стандартизація) суміші за вмістом жиру та білка відповідно до вимог чинних стандартів.

Підготовлене молоко охолоджують до температури заквашування, а саме 28-32°C і проводять додавання закваски, *P. roqueforti* та CaCl_2 . Вноситься мезофільна ароматоутворююча бактеріальна закваска культур *Lactococcus lactis* та *Leuconostoc spp.*, що забезпечує контрольоване кислотоутворення та первинне утворення CO_2 , яке сприяє формуванню відкритої текстури сиру. Одночасно вноситься стандартизована суспензія спор обраного штаму *P. roqueforti* №3. Також додається розчин хлориду кальцію CaCl_2 для компенсації втрат іонізованого кальцію після пастеризації, що є необхідним для забезпечення формування щільного, якісного згустку та максимального виходу сиру.

Далі проводиться етап згортання молока. У суміш вносять сичужний фермент та залишають для коагуляції при контрольованій температурі 28-32°C. Відносно низька температура процесу та тривалість (40-70 хвилин) сприяють утворенню м'якого, еластичного згустку з високим рівнем гідратації.

Після досягнення необхідної пружності проводиться різання згустку на кубики відносно великого розміру – 10-20 мм. Більший розмір кубика означає меншу загальну площу поверхні для виділення сироватки, що призводить до повільнішого та менш інтенсивного зневоднення. Метою цієї операції є збереження високої масової частки вологи у сирному зерні та запобігання його надмірному ущільненню. Після короткого та обережного вимішування, що запобігає руйнуванню зерен, маса переходить на етап формування без преса.

Сирне зерно разом із залишками сироватки переноситься у перфоровані

форми, де відбувається самопресування та відціджування сироватки. Цей етап є критичним для блакитних сирів. Оскільки зовнішній тиск не застосовується, сирне зерно осідає та ущільнюється лише під власною вагою. Внаслідок цього окремі зерна не зливаються у суцільний шар. Між ними залишається розгалужена мережа механічних порожнин, пустот та каналів, і саме на етапі самопресування структурно закладається «каркас» для майбутнього розвитку плісняви; створюються внутрішні «дихальні шляхи», які будуть необхідні на етапі аерації.

Після достатнього ущільнення та відціджування головки сиру виймають з форм і направляють на обсолювання. Виконується саме сухе соління, з масовою часткою NaCl 2,5-5%, оскільки занурення в розсіл може пошкодити неконсолідовану головку сиру або призвести до надмірного поглинання води. Сухе соління шляхом втирання кристалів солі дозволяє створити контрольований градієнт концентрації солі – високий на поверхні та нижчий всередині. Висока концентрація солі на поверхні (до 5%) виконує декілька функцій [68]:

- 1) пригнічує розвиток небажаної поверхневої мікрофлори;
- 2) регулює активність води (a_w);
- 3) виступає потужним селективним фактором, що інгібує конкурентні мікроорганізми, але є толерантним для *P. roqueforti*.

Після соління сир кілька днів проходить коротке підсушування у контрольованих умовах для формування тонкої захисної скоринки та видалення зайвої поверхневої води.

Наступним технологічним етапом, що ініціює дозрівання, є проколювання (аерація). Операція є метаболічним перемикачем для всього подальшого процесу. *P. roqueforti* є суворим аеробом, і його спори, внесені в молоко, до цього моменту перебували у стані спокою в анаеробній сирній масі. Проколювання головок довгими стерильними голками створює мережу вертикальних каналів, які з'єднують атмосферний кисень з механічними порожнинами, що були створені під час самопресування. Надходження кисню

є тригером, який ініціює масове проростання спор, ріст міцелію вздовж каналів, формуючи характерні блакитно-зелені «прожилки» та, що найважливіше, початок інтенсивного синтезу та секреції позаклітинних ферментів у сирну матрицю [42].

Процес дозрівання сиру поділяється на два чіткі біохімічні етапи, що кардинально відрізняються за умовами та перебігом метаболічних процесів.

Аеробне визрівання. Після аерації сир переміщують у камери визрівання з високою відносною вологістю ($W=90-97\%$) та контрольованою температурою ($9-12^{\circ}\text{C}$); такі умови є оптимальними для вегетативного росту *P. roqueforti*. На даному етапі розгортаються три паралельні та взаємопов'язані процеси:

1) Інтенсивний ліполіз. Позаклітинні ліпази гриба активно атакують тригліцериди молочного жиру, доступ до яких був посилений гомогенізацією, гідролізуючи їх з утворенням вільних жирних кислот (ВЖК), зокрема середньоланцюгових (капронової $\text{C}_{6:0}$, каприлової $\text{C}_{8:0}$, капринової $\text{C}_{10:0}$) [42].

2) Синтез метилкетонів. Вивільнені ВЖК поглинаються міцелієм гриба і вступають у пероксисомальний шлях β -окислення. Однак у *P. roqueforti* цей шлях є неповним. Замість повного окислення до ацетил-КоА, проміжні 3-кетואцил-КоА гідролізуються та негайно декарбоксилуються специфічною β -кетואцил декарбоксилазою. В результаті утворюються леткі метилкетони з непарною кількістю атомів вуглецю, такі як, 2-пентанон, 2-гептанон, 2-нонанон, які формують характерний гострий, «перцевий» аромат блакитного сиру [81, 86].

3) Контрольований протеоліз. Паралельно помірна протеолітична активність штаму №3 забезпечує поступовий, контрольований гідроліз казеїнової матриці, що призводить до пом'якшення текстури (перетворення її з крихкої на маслянисту) та накопичення пептидів і вільних амінокислот [42].

Анаеробне дозрівання (обгортання у фольгу та стабілізація, $4-8^{\circ}\text{C}$). Після досягнення необхідного рівня розвитку плісняви, через 25-30 днів, сир щільно обгортають в алюмінієву фольгу, завдяки чому створюються анаеробні

умови, які кардинально змінюють біохімію процесу; аеробний вегетативний ріст *P. roqueforti* та його спороутворення припиняються, і, що важливо, зупиняється аеробний шлях β -окислення, тобто припиняється активний синтез нових метилкетонів [67]. Далі сир переміщують на дозрівання та стабілізацію при зниженій температурі 4-8°C. Традиційні терміни дозрівання сирів типу Рокфор варіюються в широких межах, від 60 до 120 днів. Однак, застосування обраної нами технології, що базується на комбінованій стратегії, дозволяє значно прискорити дозрівання, скорочуючи загальний цикл з 90 до 60 днів без погіршення якості продукту.

Після завершення фази стабілізації сир проходить органолептичний контроль і направляється на фасування та маркування. Сир може фасуватися цілими головками, сегментами у вакуумні пакети або порційно у фольгу. Термін придатності та умови зберігання готового продукту (при 4-8°C) встановлюються виробником на основі досліджень щодо стабільності якості.

3.4. Органолептична оцінка виготовленого пліснявого сиру

Органолептична оцінка є ключовим інструментом встановлення споживчої якості та відповідності готового продукту характерним властивостям сирів із блакитною пліснявою. Комплексна органолептична характеристика формується внаслідок збалансованої взаємодії протеолітичних і ліполітичних процесів, інтенсивності синтезу летких сполук, рівня дозрівання та морфологічної структури плісняви *Penicillium roqueforti*. За сучасними даними, специфічний аромат і смак сирів типу Рокфор пов'язані з накопиченням метилкетонів, вторинних спиртів, естерів та коротколанцюгових жирних кислот, тоді як текстура визначається глибиною протеолізу та рівномірністю колонізації міцелієм [38, 42].

Оцінку виготовленого сиру проведено після завершення циклу дозрівання (60 діб), який включав контрольовану аеробну фазу та фазу

стабілізації в анаеробних умовах. Органолептичний аналіз здійснювали згідно з рекомендаціями ДСТУ 8027:2015 [10] та методологією, прийнятою в сучасних дослідженнях сирів із пліснявою [40]. Оцінювання проводили за п'ятьма ознаками: зовнішній вигляд, структура та консистенція, колір і характер прожилкування, смак, аромат. Кожен показник оцінювали за п'ятибальною шкалою, де 1 бал означав незадовільну якість, а 5 балів – повну відповідність сиру міжнародному стандарту. Отримані результати наведені в таблиці 7.

Таблиця 7

Органолептичні показники виготовленого сиру типу Рокфор

№	Показник	Характеристика	Оцінка, балів (n=5)
1	Зовнішній вигляд	Цілісна головка, рівна поверхня, рівномірна тонка кірка	4,8±0,1
2	Структура і консистенція	Помірно м'яка, еластична, однорідна, без надмірного розм'якшення	4,6±0,2
3	Колір і прожилкування	Інтенсивні блакитно-зелені прожилки, рівномірно розподілені по масі	4,9±0,1
4	Аромат	Виразний, характерний для Рокфору; метилкетоніова, горіхово-гостра та вершкова ноти	4,7±0,2
5	Смак	Гармонійний, пікантний, з легкою солонуватістю та довготривалим післясмаком	4,8±0,1
Середній підсумковий бал			4,76

Згідно з результатами, сир продемонстрував високий рівень відповідності органолептичному профілю Рокфору. Найвищі оцінки були відзначені за критерієм прожилкування, що корелює з морфологічними особливостями штаму *Penicillium roqueforti* №3, здатного швидко проростати в аеробних каналах і формувати інтенсивне забарвлення міцелію. Високі бали за смаком і ароматом узгоджуються з результатами експериментального визначення ліполітичної активності цього штаму, що забезпечує активне накопичення метилкетонів і вторинних спиртів, відповідальних за специфічні пікантні ноти сиру.

Середню оцінку за консистенцією, а саме $4,6 \pm 0,2$, можна пояснити помірною протеолітичною активністю штаму, що забезпечує збалансоване пом'якшення білкової матриці без надмірної кремоподібності. Подібні співвідношення між структурою і ферментативними процесами описані в дослідженні Atasever and Mazlum [38], де оптимальний рівень протеолізу вважається ключовим для досягнення типової текстури продукту.

Таким чином, проведена органолептична оцінка підтверджує, що застосування штаму *P. roqueforti* №3 та оптимізованої технології дозрівання дозволяє отримати сир типу Рокфор із комплексними органолептичними характеристиками, притаманними високоякісним блакитним сирами європейського типу.

3.5. Економічна частина

Економічна ефективність процесів культивування мікроміцетів, зокрема *Penicillium roqueforti*, визначається не лише прямими витратами на компоненти поживних середовищ, але й їхньою здатністю забезпечувати високу біологічну продуктивність при оптимальному використанні джерел вуглецю та азоту. За сучасними даними [55], метаболічна ефективність росту *P. roqueforti* залежить від температурного режиму, співвідношення поживних речовин і доступності енергетичних субстратів. При цьому твердофазна

ферментація на органічних субстратах дає змогу досягти високого виходу спор за рахунок кращого використання азотних сполук, що є важливим чинником зниження собівартості кінцевого продукту. Наприклад, оптимізація твердофазної ферментації на субстраті із відходів жовтого момбін-плоду *Spondias mombin* дозволила досягти значної активності ксиланази [79]. Також дослідження показують, що зміна концентрації вологи, температури й інших параметрів твердофазної ферментації може різко впливати на продукцію ферментів, що в свою чергу впливає на витрати живильного середовища та вихід цільового продукту [56]. Що стосується співвідношення поживних речовин, то типи джерела азоту (наприклад, різні пептони) значно впливають на швидкість росту *P. roqueforti*. У класичних дослідженнях вивчення росту показало, що різні типи пептонів підтримують подібну або навіть вищу швидкість росту, ніж стандартні пептони, що відкриває можливості для зниження собівартості поживного середовища шляхом підбору оптимального, але менш дорогого джерела азоту [71].

Водночас, параметри водної активності та складу середовища істотно впливають на швидкість росту колоній і стабільність морфологічних характеристик штаму, що прямо корелює з економічними показниками виробництва. Узагальнення генетичних, фізіологічних і біотехнологічних аспектів *P. roqueforti* підтверджує, що оптимізація рецептури поживного середовища та раціональне використання збагачених компонентів (пептону, казеїну, лактози) дозволяє зменшити питомі витрати без втрати біологічної активності культури [58, 69].

Для проведення розрахунків було проаналізовано актуальні цінові пропозиції на ринку лабораторних реагентів та харчових добавок України. Встановлено, що найбільш вартісним компонентом, який формує базову ціну всіх середовищ, є агар мікробіологічний (середня вартість ≈ 1400 грн/кг). Диференціація вартості середовищ відбувається переважно за рахунок джерел азотного живлення: пептон (основа середовища PLA) є високовартісним компонентом (≈ 2800 грн/кг), тоді як нітрат натрію (основа CZA) є значно

дешевшим (≈ 180 грн/кг). Розрахунок виходу спор проводився на основі експериментальних даних щільності спороношення, отриманих на попередніх етапах дослідження, із розрахунку приготування 50 чашок Петрі ($d=90$ мм) з 1 літра середовища. Результати розрахунку економічної ефективності використання поживних середовищ наведено в таблиці 8.

Таблиця 8

Розрахунок економічної ефективності використання поживних середовищ для культивування *Penicillium roqueforti*

Показник	Середовище			
	PDA	CZA	PLA	CSSA
1. Витрати на компоненти, грн/л*:				
Агар	21,00	21,00	21,00	21,00
Джерела вуглецю	2,40	1,20	5,00	3,75
Джерела азоту	44,00**	0,36	28,00	16,25
Мінеральні солі та добавки	-	1,50	1,20	2,40
Всього вартість 1 л середовища, грн	67,40	24,06	55,20	43,40
2. Біологічна продуктивність:				
Щільність спор, млн/см ²	62,0	21,0	85,0	58,0
Вихід спор з 1 л, млрд спор	197,1	66,7	270,3	184,4
3. Економічна ефективність:				
Собівартість 1 млрд спор, грн	0,34	0,36	0,20	0,24

*Ціни станом на 2025 р.

**Вартість розрахована для сухого комерційного картопляного екстракту. При використанні натурального відвару вартість знижується, проте втрачається стандартизація складу.

На основі отриманих розрахункових даних проведено комплексний аналіз економічної доцільності використання досліджуваних середовищ, який виявив, що номінальна вартість приготування поживного середовища не є визначальним фактором ефективності виробничого процесу. Порівняння результатів культивування на мінімальному синтетичному середовищі Чапека-Докса (CZA) та збагачених органічних середовищах демонструє явище «хибної економії»: хоча вартість приготування одного літра CZA є найнижчою серед усіх варіантів, а саме 24,06 грн, вкрай низька біологічна продуктивність штаму на цьому субстраті призводить до того, що собівартість кінцевого продукту – одиниці життєздатних спор – сягає максимуму (0,36 грн за 1 млрд спор).

Зовсім іншу динаміку демонструє використання збагачених поживних середовищ, зокрема пептонно-лактозного агару (PLA). Незважаючи на те, що вартість його приготування більш ніж удвічі перевищує вартість CZA і наближається до вартості стандартного середовища PDA, висока концентрація доступних джерел азоту та енергії забезпечує максимальну щільність спороношення. Ефект масштабу біологічної продуктивності дозволяє суттєво знизити собівартість кінцевого продукту: отримання 1 мільярда спор на середовищі PLA коштує лише 0,20 грн, що є найнижчим показником серед усіх досліджуваних варіантів. Це на 41% вигідніше порівняно з традиційним картопляно-декстрозним агаром та на 44% ефективніше за використання дешевого середовища CZA. Спеціалізоване сирне середовище (CSSA) із показником 0,24 грн/млрд спор займає проміжну позицію, поступаючись PLA, проте переважаючи стандартні лабораторні середовища, що робить його резервним варіантом для специфічних біотехнологічних завдань.

РОЗДІЛ 4

ОХОРОНА ПРАЦІ

Охорона праці є найважливішою ланкою організації виробничого та науково-дослідного процесу, що включає систему правових, соціально-економічних, організаційно-технічних, санітарно-гігієнічних і лікувально-профілактичних заходів та засобів, спрямованих на збереження життя, здоров'я і працездатності людини у процесі трудової діяльності. Правовою основою організації робіт з охорони праці Конституція України, яка у статті 43 гарантує кожному право на належні, безпечні і здорові умови праці, та Закон України «Про охорону праці», який визначає основні положення щодо реалізації цього права [28].

Виконання досліджень проводилося на базі виробничої мікробіологічної лабораторії ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв», де функціонує система управління охороною праці, інтегрована в загальну систему менеджменту підприємства. Система відповідає вимогам міжнародного стандарту ДСТУ ISO 45001:2019 «Системи управління охороною здоров'я та безпекою праці», що забезпечує системний підхід до ідентифікації небезпек, оцінки ризиків та впровадження заходів контролю для мінімізації виробничого травматизму та професійної захворюваності [13].

Специфіка біотехнологічних досліджень пліснявого гриба *Penicillium roqueforti* полягає у безпосередньому контакті дослідника з біологічними агентами, поживними середовищами, хімічними реактивами, а також використання складного лабораторного устаткування. Згідно з класифікацією біологічних агентів, гриби роду *Penicillium* відносяться до мікроорганізмів, що не становлять значної епідеміологічної загрози для здорових осіб, проте робота з ними вимагає суворого дотримання правил біологічної безпеки. Головним виробничим фактором ризику при роботі з даною культурою є можливість утворення біоаерозолів, насичених конідіями (спорами) гриба. Потрапляння спор у дихальні шляхи персоналу може призвести до

сенсibilізації організму та виникнення алергічних реакцій, таких як алергічний риніт, бронхіальна астма або екзогенний алергічний альвеоліт. Для запобігання цьому, усі маніпуляції, пов'язані з пересіванням культур, приготуванням спорових суспензій та відбором проб, здійснювалися у спеціально обладнаних боксах біологічної безпеки або у зоні дії ламінарних шаф, які забезпечують створення стерильного середовища та захист оператора від вдихання аерозолів завдяки системі фільтрації повітря HEPA-фільтрами [5].

Важливою складовою безпеки праці є використання засобів індивідуального захисту (ЗІЗ), вимоги до яких регламентуються «Технічним регламентом засобів індивідуального захисту». Під час виконання лабораторних робіт обов'язковим є використання спеціального одягу, зазвичай бавовняного халата, що запобігає забрудненню особистих речей та шкіри біологічним матеріалом. Для захисту рук застосовуються одноразові нітрилові рукавички, стійкі до дії хімічних речовин та непроникні для мікроорганізмів. При виконанні операцій з високим ризиком утворення пилу, наприклад, зважування сухих компонентів поживних середовищ, або аерозолів, використовуються респіратори класу захисту FFP2 або FFP3 та захисні окуляри закритого типу для запобігання потраплянню подразнюючих речовин на слизову оболонку очей [26].

Хімічна безпека займає значне місце в структурі заходів охорони праці, оскільки приготування поживних середовищ вимагає використання хімічних реактивів різного ступеня небезпеки. Зокрема, для корегування рівня рН середовищ використовуються розчини кислот та лугів. Робота з цими речовинами регулюється НПАОП 73.1-1.11-12 «Правила охорони праці під час роботи в хімічних лабораторіях» [24].

Відповідно до нормативних вимог, усі роботи з леткими, їдкими або токсичними речовинами повинні проводитись виключно у витяжних шафах з увімкненою примусовою вентиляцією, швидкість руху повітря в яких становить не менше 1 м/с. Зберігання хімічних реактивів здійснюється у

спеціально відведених металевих шафах або на стелажах з урахуванням груп сумісності речовин, щоб унеможливити їхню випадкову взаємодію. Кожна ємність з хімічною речовиною має чітке маркування згідно з вимогами чинного законодавства, включаючи назву речовини, її концентрацію, дату приготування та піктограми небезпеки. На випадок аварійних ситуацій (розливу кислот або лугів) в лабораторії передбачено наявність нейтралізуючих розчинів (розчин соди для нейтралізації кислот та розчин оцтової або борної кислоти для нейтралізації лугів), а також аптечки першої допомоги [24].

Значна увага приділяється безпеці при експлуатації лабораторного обладнання, зокрема судин, що працюють під тиском (автоклави), термостатів, сушильних шаф, центрифуг та мікроскопів. Експлуатація автоклавів, які використовуються для стерилізації поживних середовищ та знезараження відпрацьованого матеріалу, є одним з найбільш відповідальних процесів через наявність високого тиску та температури пари (121 °C, 1,1 атм). До роботи з автоклавами допускаються лише особи, які пройшли спеціальне навчання та інструктаж з охорони праці. Перед кожним циклом стерилізації проводиться візуальний огляд манометрів, запобіжних клапанів та герметичності кришки. Категорично забороняється відкривати кришку автоклава до повного вирівнювання тиску з атмосферним та охолодження камери, щоб уникнути термічних опіків паром або викиду гарячої рідини. При роботі з центрифугами особлива увага приділяється правильному балансуванню ротора, оскільки дисбаланс може призвести до руйнування пробірок та механічного пошкодження апарату [23].

Електробезпека в лабораторії забезпечується відповідно до вимог «Правил улаштування електроустановок». Усі електроприлади, задіяні в дослідженнях, підлягають регулярному технічному огляду. Корпуси металевих приладів (автоклавів, холодильників, термостатів) повинні бути надійно заземлені. Перед початком роботи проводиться візуальний огляд цілісності ізоляції кабелів, штепсельних вилок та розеток. Забороняється

використовувати несправне обладнання, залишати ввімкнені прилади без нагляду (окрім тих, що передбачають цілодобовий режим роботи, наприклад, термостати), а також використовувати саморобні подовжувачі. У приміщенні лабораторії застосовуються світильники з вологонепроникними плафонами, що полегшує їх санітарну обробку та запобігає потраплянню вологи на струмопровідні частини [20].

Пожежна безпека на об'єкті досліджень регламентується Кодексом цивільного захисту України та «Правилами пожежної безпеки в Україні». Специфіка мікробіологічних робіт передбачає використання відкритого вогню (спиртівок) для стерилізації мікробіологічних петель та горловин колб, а також застосування легкозаймистих рідин, наприклад етилового спирту, для дезінфекції. У зв'язку з цим робочі місця оснащені первинними засобами пожежогасіння, зокрема вуглекислотними вогнегасниками, які є найбільш ефективними для гасіння загорянь електрообладнання та лабораторного посуду без нанесення значної шкоди дороговартісній техніці. Проводиться постійний контроль за справністю вогнегасників та термінами їх технічного обслуговування. Запаси легкозаймистих рідин у робочому приміщенні не повинні перевищувати добової потреби і зберігатися у товстостінному скляному посуді з притертими пробками у металевих шафах, віддалених від джерел тепла та прямих сонячних променів. Евакуаційні шляхи в лабораторії утримуються вільними, а на видних місцях розміщені плани евакуації та знаки пожежної безпеки [20].

Санітарно-гігієнічні умови праці відповідають чинним нормам. Мікроклімат виробничих приміщень підтримується на рівні, комфортному для роботи персоналу та необхідному для дотримання технологічних вимог культивування мікроорганізмів: температура повітря становить 18-22°C, відносна вологість – 40-60%. Лабораторія обладнана системою припливно-витяжної вентиляції, яка забезпечує необхідну кратність повітрообміну, видалення надлишків тепла та вологи, а також шкідливих газів і парів. Освітлення робочих місць є комбінованим, поєднуючи природне світло та

штучне освітлення люмінесцентними лампами, що забезпечує освітленість на робочих поверхнях не менше 300-500 лк. Для зниження зорового напруження під час мікроскопічних досліджень дотримуються регламентованих перерв у роботі [4].

Важливим аспектом охорони праці є також дотримання правил особистої гігієни. У лабораторії категорично забороняється вживати їжу, пити напої, палити та зберігати особисті речі на робочих столах. Після завершення роботи з біологічним матеріалом, а також перед виходом з лабораторії, обов'язковим є миття рук з милом та їх обробка антисептичними засобами. Відпрацьований біологічний матеріал, культури грибів, використані чашки Петрі та піпетки підлягають обов'язковому знезараженню шляхом автоклавування при температурі 121°C протягом 30-60 хвилин перед утилізацією, що гарантує біобезпеку навколишнього середовища та унеможливорює поширення досліджуваних мікроорганізмів за межі лабораторної зони [15].

РОЗДІЛ 5

БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

В умовах сьогодення забезпечення стійкого функціонування підприємств харчової промисловості є стратегічним завданням, що вимагає комплексної системи заходів із цивільного захисту та безпеки у надзвичайних ситуаціях. Специфіка біотехнологічного виробництва сирів, яка передбачає використання складного технологічного обладнання, холодильних установок великої потужності, посудин під тиском та безперервність циклів культивування мікроорганізмів, зумовлює високий рівень потенційної техногенної небезпеки. Крім того, розташування виробничих потужностей у м. Миколаїв актуалізує необхідність урахування ризиків воєнного характеру, зокрема ракетних обстрілів та руйнування інфраструктури. Організація цивільного захисту на об'єкті базується на положеннях Кодексу цивільного захисту України, який визначає алгоритми дій керівництва та персоналу щодо запобігання та ліквідації наслідків надзвичайних ситуацій різного походження [17].

Головною метою системи безпеки в надзвичайних ситуаціях на досліджуваному підприємстві є захист життя і здоров'я працівників, мінімізація матеріальних збитків та забезпечення можливості швидкого відновлення виробничого циклу після локалізації небезпеки. ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв», як потужний виробник молочної продукції, використовує у технологічному процесі аміачні холодильні установки для підтримки температурних режимів дозрівання та зберігання сирів. Аміак відноситься до сильнодіючих отруйних речовин (СДОР), що дозволяє класифікувати окремі дільниці заводу як хімічно небезпечний об'єкт. У зв'язку з цим, ключовим елементом планування безпеки є розробка та впровадження Плану локалізації і ліквідації аварійних ситуацій і аварій, що регламентує дії персоналу у випадку розгерметизації системи та викиду аміаку [19].

Організація цивільного захисту на підприємстві здійснюється за лінійно-

функціональним принципом, де начальником цивільного захисту об'єкта є генеральний директор, який несе персональну відповідальність за готовність системи оповіщення та захисних споруд. На підприємстві створено об'єктову комісію з питань надзвичайних ситуацій, до функцій якої входить моніторинг стану техногенної безпеки, контроль за справністю локальних систем оповіщення та організація евакуаційних заходів. Зважаючи на характер виробництва, найбільш вірогідними надзвичайними ситуаціями техногенного характеру є: аварії на аміачних холодильних установках з викидом СДОР, пожежі в складських або виробничих приміщеннях, аварії на системах енергопостачання [30].

Особлива увага в системі безпеки приділяється захисту від хімічних загроз. Аміак є токсичним газом, який при витокі утворює хмару, що поширюється за напрямком вітру, викликаючи ураження дихальних шляхів та слизових оболонок людини, а у високих концентраціях – летальні наслідки. Для виявлення витоків на підприємстві встановлено автоматичні газоаналізатори, які при перевищенні гранично допустимої концентрації (ГДК) аміаку в повітрі робочої зони подають звуковий та світловий сигнали на диспетчерський пункт. Система безпеки холодильних установок передбачає автоматичне відключення компресорів, перекриття запірної арматури та включення аварійної вентиляції. Крім того, для осадження аміачної хмари передбачено застосування водяних завіс, оскільки аміак добре розчиняється у воді. Весь персонал, задіяний на роботах у зонах підвищеної небезпеки, забезпечений ізолюючими протигазами та захисними костюмами типу Л-1, а на робочих місцях знаходяться промислові фільтруючі протигazi марки «КД» або «М» [30].

Пожежна безпека є другим критичним напрямком захисту, оскільки на території підприємства знаходяться склади пакувальних матеріалів, готова продукція, а також спирторозчинні речовини, що використовуються в лабораторних умовах. Відповідно до «Правил пожежної безпеки в Україні», всі приміщення обладнані автоматичними системами пожежної сигналізації та

первинними засобами пожежогасіння. У цехах встановлено внутрішні пожежні крани, а на території заводу – пожежні гідранти, що забезпечують забір води пожежною технікою. Особливістю гасіння пожеж на електроустановках та в лабораторіях є використання вуглекислотних та порошкових вогнегасників, щоб уникнути ураження електричним струмом та пошкодження дороговартісного обладнання. Евакуаційні шляхи на підприємстві утримуються вільними, обладнані аварійним освітленням та знаками безпеки, що вказують напрямок руху до безпечної зони. Регулярно проводяться протипожежні тренування, під час яких відпрацьовуються навички евакуації персоналу та гасіння умовної пожежі добровільною пожежною дружиною об'єкта [25].

Враховуючи сучасні реалії та розташування підприємства в зоні можливих бойових дій або ракетних ударів, система безпеки в надзвичайних ситуаціях була адаптована до умов воєнного стану. На території ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв» облаштовано захисні споруди цивільного захисту (сховища), які здатні забезпечити захист працюючої зміни від впливу звичайних засобів ураження та уламків. Згідно з вимогами ДБН В.2.2-5:202х «Захисні споруди цивільного захисту», ці приміщення обладнані системою вентиляції, запасами питної води, медикаментами та засобами зв'язку. Алгоритм дій при сигналі «Повітряна тривога» передбачає негайну зупинку тих технологічних процесів, переривання яких не створює загрози вибуху чи аварії (безаварійна зупинка), та організоване переміщення персоналу до укриття. Для процесів, які неможливо зупинити миттєво (наприклад, певні етапи ферментації або пастеризації), розроблено спеціальні інструкції для чергового персоналу, що залишається на робочих місцях, із забезпеченням їх засобами індивідуального захисту та облаштуванням локальних захищених зон за правилом «двох стін» безпосередньо в цеху [3].

Планування заходів з евакуації передбачає як екстрене виведення персоналу з території заводу у випадку локальних аварій, так і можливість повної евакуації підприємства в безпечні райони при загрозі катастрофічного

затоплення або масованих обстрілів. Евакуаційні плани графічно відображені на схемах, розміщених на кожному поверсі адміністративних та виробничих будівель. Важливим аспектом є навчання персоналу. Згідно з Постановою КМУ № 444 «Про затвердження Порядку здійснення навчання населення діям у надзвичайних ситуаціях», всі працівники проходять вступні, первинні та повторні інструктажі, а також беруть участь у спеціальних об'єктових навчаннях і тренуваннях, що дозволяє сформувати психологічну стійкість та довести до автоматизму дії при виникненні реальної загрози [22].

Стійкість роботи підприємства також залежить від надійності систем енергопостачання. Перебої з електроенергією, спричинені НС, можуть призвести до порушення температурних режимів зберігання продукції та загибелі культур мікроорганізмів, що призведе до значних економічних збитків [30]. Тому на підприємстві передбачено систему автономного енергозабезпечення (дизель-генератори), яка здатна підтримувати роботу критично важливого обладнання: системи управління холодильними установками, аварійного освітлення, пожежних насосів та охоронної сигналізації. Запаси палива для генераторів постійно поновлюються та зберігаються з дотриманням правил пожежної безпеки.

Окремим аспектом безпеки є оповіщення та зв'язок. Система оповіщення підприємства інтегрована в загальноміську систему централізованого оповіщення м. Миколаїв. Окрім того, функціонує локальна система гучномовного зв'язку, яка дозволяє диспетчеру оперативно інформувати персонал про характер загрози та необхідні дії. У випадку виходу з ладу телефонного та мобільного зв'язку передбачено використання радіостанцій УКХ-діапазону для координації дій між керівництвом, аварійними ланками та службою охорони. Інформаційна безпека також є частиною комплексу заходів, спрямованих на недопущення поширення паніки та дезінформації серед колективу у кризових ситуаціях.

РОЗДІЛ 6

ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

Забезпечення екологічної безпеки є критично важливим елементом стратегії розвитку підприємств молокопереробної галузі, що зумовлено значними обсягами використання природних ресурсів та специфікою утворення відходів. Діяльність підприємства у цій сфері регулюється законами України «Про охорону навколишнього природного середовища», «Про управління відходами», Водним кодексом та міжнародним стандартом ДСТУ ISO 14001:2015. Виробництво сирів з пліснявою має особливі екологічні аспекти, пов'язані з використанням культури *Penicillium roqueforti*, утворенням висококонцентрованих стічних вод та необхідністю контролю біологічних викидів [2, 12, 27, 29].

Найбільш суттєвий вплив на довкілля здійснює водовідведення. Виробництво сиру характеризується високим водоспоживанням (2-5 м³ води на 1 т молока) та утворенням стічних вод із значним вмістом органічних сполук, що призводить до високих показників хімічного та біологічного споживання кисню. Специфічним побічним продуктом є підсирна сироватка, яка через застосування технології сухого посолу та високої кислотності стає агресивним стоком із підвищеною мінералізацією. Потрапляння неочищеної сироватки у водойми спричиняє різке порушення рН та евтрофікацію, що загрожує водним екосистемам. Для запобігання цьому на підприємстві функціонують локальні очисні споруди, які забезпечують механічну та біологічну очистку стоків перед їх скиданням у міську мережу, доводячи показники забруднення до нормативних значень [31, 88].

Охорона атмосферного повітря на виробництві вимагає особливої уваги через ризик утворення біоаерозолів. Мікроскопічні спори гриба *P. roqueforti*, розміром 3-5 мкм, мають високу летючість і можуть потрапляти у вентиляційну систему. Хоча цей гриб не є патогенним, його неконтрольований викид може спричинити біологічне забруднення довкілля та перехресну

контамінацію на інших харчових виробництвах. Для нейтралізації цього ризику системи вентиляції в цехах дозрівання та лабораторії обладнані фільтрами тонкого очищення (HEPA), що уловлюють до 99,9% часток. Також здійснюється суворий моніторинг герметичності аміачних холодильних установок, оскільки витік аміаку становить значну загрозу для персоналу та атмосфери [36].

Система поводження з відходами на підприємстві організована згідно із Законом України «Про управління відходами» та передбачає їх роздільний збір. Специфікою даного виробництва є утворення біологічно небезпечних відходів – відпрацьованих поживних середовищ та культур гриба, які підлягають обов'язковому автоклавуванню перед утилізацією. Інші виробничі відходи, наприклад, пакувальні матеріали, макулатура, склобій, передаються на вторинну переробку. Небезпечні відходи, такі як люмінесцентні лампи та відпрацьовані мастила, утилізуються спеціалізованими організаціями [29].

Екологічна безпека продукції формується на етапі вхідного контролю сировини. Молоко, що надходить із фермерських господарств, перевіряється на вміст антибіотиків, пестицидів та радіонуклідів. Залишки інгібіторів у молоці не лише шкодять здоров'ю споживачів, але й блокують розвиток культури *P. roqueforti*, що призводить до виробничого браку та збільшення відходів. Безпечність самого біологічного агента гарантується використанням селекціонованих штамів, які пройшли скринінг на відсутність здатності продукувати небезпечні мікотоксини (зокрема PR-токсин). Застосування оптимізованих поживних середовищ дозволяє підвищити ефективність культивування, зменшуючи витрати ресурсів на одиницю посівного матеріалу [21, 43].

Шляхи покращення екологічного стану виробництва та імплементація принципів сталого розвитку полягають у комплексному впровадженні ресурсозберігаючих та маловідходних технологій. Пріоритетним стратегічним напрямком є перехід до замкнутого циклу водокористування та глибока переробка вторинної сировини, зокрема підсирної сироватки, яка утворюється

при виробництві сиру. Застосування сучасних баромембранних методів, таких як ультрафільтрація та нанофільтрація, дозволяє фракціонувати сироватку, виділяючи цінні сироваткові білки (альбуміни, глобуліни) у вигляді білкового концентрату, що є високоліквідним продуктом харчового призначення. Пермеат, що залишається після фільтрації і містить переважно лактозу та мінеральні солі, доцільно використовувати як субстрат для анаеробного зброджування в біогазових установках. Даний біотехнологічний процес дозволяє вирішити подвійну задачу: утилізувати екологічно небезпечний відхід із високим показником хімічного споживання кисню та отримати відновлюване джерело енергії – біогаз, який може частково замінити природний газ у котельнях підприємства, суттєво зменшуючи вуглецевий слід продукції [34].

Також важливим аспектом модернізації є підвищення енергоефективності інфраструктури, зокрема холодильних цехів, де відбувається тривале дозрівання сирів при низьких температурах (4-10 °C). Впровадження систем рекуперації тепла від конденсаторів холодильних установок дозволяє акумулювати теплову енергію, що раніше розсіювалася в атмосферу, та використовувати її для нагріву води на технологічні потреби (миття обладнання, пастеризація), що забезпечує значну економію енергоресурсів [65].

ВИСНОВКИ

1. В результаті порівняльного скринінгу чотирьох комерційних штамів *P. roqueforti* встановлено суттєву гетерогенність їхніх ферментативних властивостей. Обґрунтовано вибір штаму №3 як найоптимальнішого для виробництва сиру типу «Рокфор». Цей штам продемонстрував збалансований профіль активності: високу ліполітичну здатність ($1,018 \pm 0,051$ IU/мл), що забезпечує інтенсивний синтез ароматичних сполук, та помірну протеолітичну активність ($3,9 \pm 0,2$ IU/мл). Порівняльний аналіз показав, що на відміну від штаму №2 з надмірним протеолізмом ($28,0$ IU/мл), який несе ризик розрідження текстури та появи гіркоти, штам №3 гарантує контрольоване пом'якшення сирного тіста.

2. Визначено морфологічні закономірності росту гриба на середовищах різного складу (PDA, CZA, PLA, CSSA). Доведено перевагу спеціалізованого пептонно-лактозного середовища (PLA) для отримання посівного матеріалу. На цьому середовищі досягнуто максимальну щільність спороутворення – $8,5 \times 10^7$ спор/см², що на 37% перевищує показники стандартного середовища PDA та у 4 рази – мінімального середовища CZA. Встановлено пряму кореляцію між поживним складом середовища та енергією проростання спор: конідії, отримані на PLA, характеризуються найкоротшою лаг-фазою ($\lambda \approx 3$ год) порівняно зі спорами з бідних середовищ ($\lambda \approx 7$ год), що є критичним для швидкого захоплення субстрату у виробничих умовах.

3. Розроблено та експериментально апробовано технологічну схему виробництва сиру типу «Рокфор» з використанням відібраного штаму №3 та скороченим терміном дозрівання (60 діб). Органолептична оцінка готового продукту підтвердила ефективність запропонованих рішень: сир отримав високий середній бал – 4,76 за 5-бальною шкалою. Найвищі оцінки отримано за показниками «колір і прожилкування» (4,9 бала) та «смак» (4,8 бала), що свідчить про формування типового пікантного профілю та рівномірний розвиток міцелію в структурі сирної головки.

4. Розрахунок економічної ефективності довів доцільність використання збагачених середовищ для культивування інокуляту. Встановлено, що попри вищу вартість приготування 1 л середовища PLA (55,20 грн), собівартість одиниці цільового продукту є найнижчою і становить 0,20 грн за 1 млрд спор. Це на 44% економічно вигідніше порівняно з використанням дешевого середовища CZA (0,36 грн/млрд спор), де низька біологічна продуктивність нівелює економію на реагентах. Таким чином, використання середовища PLA є економічно обґрунтованим рішенням для промислового отримання спор *P. roqueforti*.

ПРОПОЗИЦІЇ

На основі проведених досліджень біотехнологічних властивостей *Penicillium roqueforti*, з метою удосконалення технології виробництва сирів з блакитною пліснявою на базі ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв», пропонуємо:

1. Впровадити у виробничий процес використання штаму *P. roqueforti* №3, результати досліджень якого підтвердили, що даний штам є найбільш технологічно придатним для виробництва сирів із коров'ячого молока.
2. Оптимізувати стадію підготовки інокуляту шляхом заміни стандартних лабораторних середовищ на PLA для культивування маточних культур гриба.
3. Затвердити технологічну інструкцію для виробництва сиру типу «Рокфор» з терміном дозрівання 60 діб, перейшовши на запропоновану комбіновану схему дозрівання: 30 діб аеробного визрівання з подальшим обгортанням у фольгу та анаеробною стабілізацією протягом 30 діб.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аналіз біометричних даних у розведенні та селекції тварин : навч. посіб. / С. С. Крамаренко та ін. Миколаїв : МНАУ, 2019. 211 с.
2. Водний кодекс України : Кодекс України від 06.06.1995 № 213/95-ВР : станом на 8 серп. 2025 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/213/95-вр#Text> (дата звернення: 07.12.2025).
3. ДБН В.2.2-5:202х. Захисні споруди цивільного захисту. Київ: Міністерство розвитку громад та територій України, 2022. 216 с.
4. ДСН 3.3.6.042-99 Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень. [Чинний від 1999-12-01]. Київ: МОЗ України, 1999. 22 с.
5. ДСП 9.9.5.-080-02 Державні санітарні правила та норми, гігієнічні нормативи. Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю. [Чинний від 2002-01-28]. Київ: МОЗ України, 2002. 18 с.
6. ДСТУ 2212:2003. Молочна промисловість. Виробництво молока та кисломолочних продуктів. Терміни та визначення понять. Зміна № 2. [Чинний від 2017-01-01]. Вид. офіц. Київ: ДП «УкрНДНЦ», 2016. 26 с.
7. ДСТУ 3662:2018. Молоко-сировина коров'яче. Технічні умови. [Чинний від 2019-01-01]. Вид. офіц. Київ: ДП «УкрНДНЦ», 2018. 8 с.
8. ДСТУ 4834:2007. Молоко та молочні продукти. Правила приймання, відбирання та готування проб до контролювання. [Чинний від 2008-01-01]. Вид. офіц. Київ: Держспоживстандарт України, 2008. 17 с.
9. ДСТУ 7357:2013. Молоко та молочні продукти. Методи мікробіологічного контролювання. [Чинний від 2014-01-01]. Вид. офіц. Київ: Мінекономрозвитку України, 2014. 38 с.
10. ДСТУ 8027:2015. Сири з пліснявою. Загальні технічні умови. [Чинний від 2017-01-01]. Вид. офіц. Київ: ДП «УкрНДНЦ», 2017. 17 с.
11. ДСТУ EN ISO 11133:2014. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Готування, вироблення, зберігання, випробування

культуральних середовищ (EN ISO 11133:2014, IDT). [Чинний від 2016-01-01]. Київ: ДП «УкрНДНЦ», 2014. 9 с.

12. ДСТУ ISO 14001:2015 Системи екологічного управління. Вимоги та настанови щодо застосовування (ISO 14001:2015, IDT). [Чинний від 2016-07-01]. Київ: ДП «УкрНДНЦ», 2016. 36 с.

13. ДСТУ ISO 45001:2019 Системи управління охороною здоров'я та безпекою праці. Вимоги та настанови щодо застосовування (ISO 45001:2018, IDT). [Чинний від 2021-01-01]. Київ: ДП «УкрНДНЦ», 2019. 39 с.

14. ДСТУ ISO 707:2002. Молоко та молочні продукти. Настанови з відбирання проб (ISO 707:1997, IDT). [Чинний від 2003-10-01]. Вид. офіц. Київ: Держспоживстандарт України, 2004. 35 с.

15. Інструкція щодо організації виробничого мікробіологічного контролю на підприємствах молочної промисловості / НААН; Ін-т прод. ресурсів НААН. Київ : ННЦ «ІАЕ», 2014. 372 с.

16. Історія та секрети сирів з блакитною пліснявою: горгонзола, данаблю та стилтон - Мережа супермаркетів "Наш Край". *Мережа супермаркетів «Наш Край»*. URL: <https://nashkraj.ua/blog/istoriya-ta-sekrety-syriv-z-blakytnoyu-plisnyavoyu-gorgonzola-danablyu-ta-stilton/> (дата звернення: 01.12.2025).

17. Кодекс цивільного захисту України : Кодекс України від 02.10.2012 № 5403-VI : станом на 12 верес. 2025 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/5403-17#Text> (дата звернення: 07.12.2025).

18. Міфи про сири з білою пліснявою - ТМ Pastourelle. *TM Pastourelle*. URL: <https://pastourelle.com.ua/myths-about-brie-and-camembert/?srsltid=AfmBOoosXyaFuTVb6P9vOD1jyUzbHD45nZi8PvBRUx3Nu4vyFM3WLBjT> (дата звернення: 01.12.2025).

19. НПАОП 0.00-1.51-88. Правила будови і безпечної експлуатації фреонових холодильних установок, аміачних холодильних установок. [Чинний від 1990-01-01]. Київ : Держгірпромнагляд, 1988. 45 с.

20. Особливості дотримання техніки безпеки при роботі в біохімічній та хімічній лабораторіях: навч. посібник для студентів та викладачів вузів / К. В. Александрова, В. М. Швець, М. В. Дячков, Д. А. Васильєв. Запоріжжя: ЗДМУ, 2017. 76 с.

21. Про затвердження Вимог до безпечності та якості молока і молочних продуктів: Наказ М-ва аграр. політики та продовольства України від 12.03.2019 № 118: станом на 9 верес. 2024 р.
URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0593-19#Text> (дата звернення: 07.12.2025).

22. Про затвердження Порядку здійснення навчання населення діям у надзвичайних ситуаціях: Постанова Каб. Міністрів України від 26.06.2013 № 444 : станом на 11 верес. 2024 р.
URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/444-2013-п#Text> (дата звернення: 07.12.2025).

23. Про затвердження Правил охорони праці під час експлуатації обладнання, що працює під тиском : Наказ М-ва соц. політики України від 05.03.2018 № 333. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0433-18#Text> (дата звернення: 05.12.2025).

24. Про затвердження Правил охорони праці під час роботи в хімічних лабораторіях : Наказ М-ва надзвича. ситуацій України від 11.09.2012 № 1192.
URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1648-12#Text> (дата звернення: 05.12.2025).

25. Про затвердження Правил пожежної безпеки в Україні : Наказ М-ва внутр. справ України від 30.12.2014 № 1417 : станом на 14 серп. 2024 р.
URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0252-15#Text> (дата звернення: 07.12.2025).

26. Про затвердження Технічного регламенту засобів індивідуального захисту : Постанова Каб. Міністрів України від 21.08.2019 № 771 : станом на 28 серп. 2020 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/771-2019-п#Text> (дата звернення: 05.12.2025).

27. Про охорону навколишнього природного середовища: Закон України від 25.06.1991 № 1264-XII : станом на 8 серп. 2025 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1264-12#Text> (дата звернення: 07.12.2025).
28. Про охорону праці : Закон України від 14.10.1992 № 2694-XII : станом на 12 верес. 2025 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2694-12#Text> (дата звернення: 05.12.2025).
29. Про управління відходами: Закон України від 20.06.2022 № 2320-IX : станом на 31 жовт. 2025 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2320-20#Text> (дата звернення: 07.12.2025).
30. Цивільна оборона та цивільний захис: підручник / М.І . Стеблюк. 3- тє вид., стер. Київ: Знання, 2013. 487 с.
31. A review of biological processes for dairy wastewater treatment and the effect of physical parameters which affect their efficiency / J. Ramsuroop et al. *Water*. 2024. Vol. 16, № 4. P. 537. URL: <https://doi.org/10.3390/w16040537>
32. Abbas A., Dobson A. D. W. Yeasts and molds | *Penicillium roqueforti*. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. 2011. P. 772-775. URL: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-374407-4.00363-0>
33. Active packaging applications for food / S. Yildirim et al. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2017. Vol. 17, № 1. P. 165-199. URL: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12322>
34. Adesra A., Srivastava V. K., Varjani S. Valorization of dairy wastes: integrative approaches for value added products. *Indian Journal of Microbiology*. 2021. URL: <https://doi.org/10.1007/s12088-021-00943-5>
35. Agriculturally and industrially important fungi: current developments and potential biotechnological applications / D. Kour et al. *Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi*. Cham, 2019. P. 1-64. URL: https://doi.org/10.1007/978-3-030-14846-1_1
36. Airborne contamination in the food industry: An update on monitoring and disinfection techniques of air / F. Masotti et al. *Trends in Food Science &*

Technology. 2019. Vol. 90. P. 147-156.
URL: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.006>

37. Application predictive modelling of *Penicillium roqueforti* germination in environmental conditions in cake / H. Nakhchian et al. *Czech Journal of Food Sciences*. 2025. URL: <https://doi.org/10.17221/84/2024-cjfs>

38. Atasever M., Mazlum H. Biochemical processes during cheese ripening. *Veterinary Sciences and Practices*. 2024. Vol. 19, № 3. P. 174-182. URL: <https://doi.org/10.17094/vetsci.1609184>

39. Bintsis T. Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics / *AIMS Microbiology*. 2018. Vol. 4, № 4. P. 665-684.

40. Blue Cheese / E. Mirzakhani et al. *Methods and Protocols in Food Science*. New York, NY, 2024. P. 119-138. URL: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4144-6_9

41. Blue cheese / M. D. Cantor et al. *Cheese*. 2017. P. 929-954. URL: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-417012-4.00037-5>

42. Blue cheeses: microbiology and its role in the sensory characteristics / T. M. López-Díaz et al. *Dairy*. 2023. Vol. 4, № 3. P. 410-422. URL: <https://doi.org/10.3390/dairy4030027>

43. Chávez R., Vaca I., García-Estrada C. Secondary metabolites produced by the blue-cheese ripening mold *Penicillium roqueforti*; biosynthesis and regulation mechanisms. *Journal of Fungi*. 2023. Vol. 9, № 4. P. 459. URL: <https://doi.org/10.3390/jof9040459>

44. Cheese: chemistry, physics and microbiology / P. F. Fox et al. Elsevier Science & Technology Books, 2017. 1302 p.

45. Doğan M., Tekiner İ. H. Evaluating starter culture potential of wild *Penicillium roqueforti* strains from moldy cheeses of artisanal origin. *Food Bioscience*. 2021. Vol. 43. P. 101253. URL: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101253>

46. Domestication of the emblematic white cheese-making fungus *Penicillium camemberti* and its diversification into two varieties / J. Ropars et

al. *Current Biology*. 2020. Vol. 30, № 22. P. 4441-4453.e4.
URL: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.08.082>

47. Effect of calcium chloride addition and draining pH on the microstructure and texture of full fat Cheddar cheese during ripening / K. Soodam et al. *Food Chemistry*. 2015. Vol. 181. P. 111-118.
URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.135>

48. Effects of the equilibrium atmosphere on Taleggio cheese storage in micro perforated packaging / F. Ghisoni et al. *LWT*. 2022. P. 113464.
URL: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113464>

49. Filamentous fungi and mycotoxins in cheese: A review / N. Hymery et al. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2014. Vol. 13, № 4. P. 437-456. URL: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12069>

50. Fungal treatment for the valorization of technical soda lignin / M. Daou et al. *Journal of Fungi*. 2021. Vol. 7, № 1. P. 39.
URL: <https://doi.org/10.3390/jof7010039>

51. Fungi and mycotoxins in Brazilian artisanal cheese / F. Z. Rodrigues et al. *Brazilian Journal of Food Technology*. 2025. Vol. 28.
URL: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.13124>

52. Gavenauskas M., Iršėnaitė R., Motiejūnaitė J. Interactions between fungi and other microorganisms for better fungal products: a review. *Biologija*. 2024. Vol. 70, № 2-3. URL: <https://doi.org/10.6001/biologija.2024.70.2-3.6>

53. Global cheesemaking technology: Cheese quality and characteristics / ed. by P. Papademas, T. Bintsis. Hoboken, NJ : John Wiley & Sons, 2018. 520 p.

54. Homogenization and lipase treatment of milk and resulting methyl ketone generation in blue cheese / M. Cao et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014. Vol. 62, № 25. P. 5726-5733.
URL: <https://doi.org/10.1021/jf4048786>

55. Impact of maturation and growth temperature on cell-size distribution, heat-resistance, compatible solute composition and transcription profiles of *Penicillium roqueforti* conidia / M. Punt et al. *Food Research International*. 2020.

Vol. 136. P. 109287. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109287>

56. Impact of water activity on the radial growth of fungi in a dairy environment / V. Marion et al. *Food Research International*. 2022. Vol. 157. P. 111247. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111247>

57. *In vitro* study of cheese digestion: Effect of type of cheese and intestinal conditions on macronutrients digestibility / A. Asensio-Grau et al. *LWT*. 2019. Vol. 113. P. 108278. URL: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108278>

58. Independent domestication events in the blue-cheese fungus *Penicillium roqueforti* / E. Dumas et al. *Molecular Ecology*. 2020. Vol. 29, № 14. P. 2639-2660. URL: <https://doi.org/10.1111/mec.15359>

59. Induction and quantification of patulin production in *Penicillium* species / Y. Chen et al. *BIO-PROTOCOL*. 2017. Vol. 7, № 11. URL: <https://doi.org/10.21769/bioprotoc.2324>

60. Influence of salting on physicochemical and sensory parameters of blue-veined cheeses / N. López González et al. *Dairy*. 2024. Vol. 5, № 1. P. 93-105. URL: <https://doi.org/10.3390/dairy5010008>

61. Kirtil H. E., Metin B., Arici M. Peynir küfü olarak *Penicillium roqueforti*'nin taksonomisi, morfolojik, genetik ve metabolik özellikleri. *GIDA / THE JOURNAL OF FOOD*. 2020. P. 1188-1200. URL: <https://doi.org/10.15237/gida.gd20091>

62. La domestication des champignons *Penicillium* du fromage / J. Ropars et al. *Comptes Rendus. Biologies*. 2020. Vol. 343, № 2. P. 155-176. URL: <https://doi.org/10.5802/crbiol.15>

63. Lipase and protease production of dairy *Penicillium* sp. on milk-protein-based solid substrates / H. Kumura et al. *International Journal of Dairy Technology*. 2019. URL: <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12597>

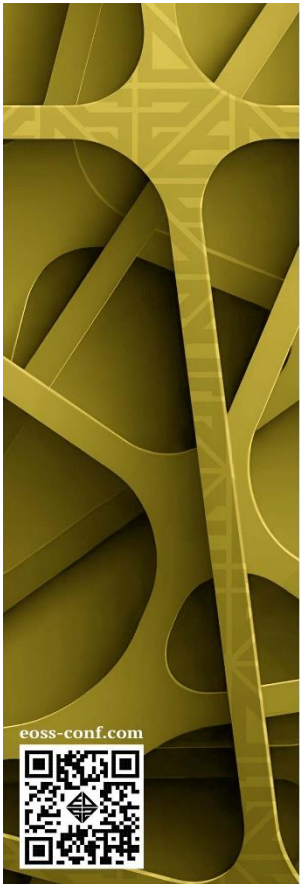
64. Lund F., Nielsen A. B., Skouboe P. Distribution of *Penicillium* commune isolates in cheese dairies mapped using secondary metabolite profiles, morphotypes, RAPD and AFLP fingerprinting. *Food Microbiology*. 2003. Vol. 20, № 6. P. 725-734. URL: [https://doi.org/10.1016/s0740-0020\(02\)00160-0](https://doi.org/10.1016/s0740-0020(02)00160-0)

65. Mashtalierov I. Energy efficiency and sustainable maintenance practices in dairy industry equipment. *Collection of scientific papers «SCIENTIA»*. Kraków, 2025. P. 39-46.
66. Metin B. *Penicillium roqueforti* secondary metabolites: biosynthetic pathways, gene clusters, and bioactivities. *Fermentation*. 2023. Vol. 9, № 9. P. 836. URL: <https://doi.org/10.3390/fermentation9090836>
67. Microbial dynamics in industrial blue veined cheeses in different packaging / P. Duval et al. *International Dairy Journal*. 2016. Vol. 56. P. 198-207. URL: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.01.024>
68. Microbiological, physico-chemical and proteolytic changes in a Spanish blue cheese during ripening (Valdeón cheese) / I. Diezhandino et al. *Food Chemistry*. 2015. Vol. 168. P. 134-141. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.039>
69. Modelling the effect of temperature, pH, water activity, and organic acids on the germination time of *Penicillium camemberti* and *Penicillium roqueforti* conidia / S. Kalai et al. *International Journal of Food Microbiology*. 2017. Vol. 240. P. 124130. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.03.024>
70. Omics Approaches to Assess Flavor Development in Cheese / R. Anastasiou et al. *Foods*. 2022. Vol. 11, № 2. P. 188. URL: <https://doi.org/10.3390/foods11020188>
71. Optimization of lipase production by *Penicillium roqueforti* ATCC 10110 through solid-state fermentation using agro-industrial residue based on a univariate analysis / S. C. Araujo et al. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*. 2021. P. 1-6. URL: <https://doi.org/10.1080/10826068.2021.1944203>
72. *Penicillium roqueforti* – an overview | ScienceDirect Topics. ScienceDirect. URL: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/penicillium-roqueforti> (дата звернення: 01.12.2025).
73. *Penicillium roqueforti* PR toxin gene cluster characterization / P. I. Hidalgo et al. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2016. Vol. 101, № 5. P. 2043-2056. URL: <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7995-5>

74. *Penicillium roqueforti*: an overview of its genetics, physiology, metabolism and biotechnological applications / E. Coton et al. *Fungal Biology Reviews*. 2020. Vol. 34, № 2. P. 59-73. URL: <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2020.03.001>
75. Preparation and application of equilibrium modified atmosphere packaging membranes with polylactic acid and polymers of intrinsic microporosity / Y. Wu et al. *Food Packaging and Shelf Life*. 2023. Vol. 37. P. 101063. URL: <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101063>
76. Proteolytic activity, mycotoxins and andrastin A in *Penicillium roqueforti* strains isolated from Cabrales, Valdeón and Bejes–Tresviso local varieties of blue-veined cheeses / M. A. Fernández-Bodega et al. *International Journal of Food Microbiology*. 2009. Vol. 136, № 1. P. 18-25. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.09.014>
77. Punt M., Teertstra W. R., Wösten H. A. B. *Penicillium roqueforti* conidia induced by L-amino acids can germinate without detectable swelling. *Antonie van Leeuwenhoek*. 2021. Vol. 115, № 1. P. 103-110. URL: <https://doi.org/10.1007/s10482-021-01686-5>
78. Ritschard J. S., Schuppler M. The Microbial Diversity on the Surface of Smear-Ripened Cheeses and Its Impact on Cheese Quality and Safety. *Foods*. 2024. Vol. 13, № 2. P. 214. URL: <https://doi.org/10.3390/foods13020214>
79. Solid-State fermentation as a green technology for biomass valorization: optimization techniques for bioprocess—an overview / L. H. S. de Menezes et al. *BioEnergy Research*. 2023. URL: <https://doi.org/10.1007/s12155-023-10670-y>
80. Sporulation of *Penicillium roqueforti* in solid substrate fermentation / E. Maheva et al. *Biotechnology Letters*. 1984. Vol. 6, № 2. P. 97-102. URL: <https://doi.org/10.1007/bf00127297>
81. Strong effect of *Penicillium roqueforti* populations on volatile and metabolic compounds responsible for aromas, flavor and texture in blue cheeses / T. Caron et al. *bioRxiv*. 2021. P. 50. URL: <https://doi.org/10.1101/2020.03.02.974352>

82. Stuffed cheese with superficial *Penicillium nalgiovense* development: Role of microperforated film packaging in the ripening process / A. Moavro et al. *International Dairy Journal*. 2020. Vol. 110. P. 104813. URL: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104813>
83. Temperature and relative humidity influence the ripening descriptors of Camembert-type cheeses throughout ripening / M. N. Leclercq-Perlat et al. *Journal of Dairy Science*. 2015. Vol. 98, № 2. P. 1325-1335. URL: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8916>
84. The reduction of salt in different cheese categories: recent advances and future challenges / F. Tidona et al. *Frontiers in Nutrition*. 2022. Vol. 9. URL: <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.859694>
85. Uncovering the biotechnological importance of *Geotrichum candidum* / E. Kamilari et al. *Foods*. 2023. Vol. 12, № 6. P. 1124. URL: <https://doi.org/10.3390/foods12061124>
86. Walker V., Mills G. A. 2-Pentanone production from hexanoic acid by *Penicillium roqueforti* from blue cheese: is this the pathway used in humans?. *The Scientific World Journal*. 2014. Vol. 2014. P. 1-11. URL: <https://doi.org/10.1155/2014/215783>
87. Whitaker A., Hall S. J., Stanbury P. F. Principles of fermentation technology. Elsevier Science & Technology Books, 2013.
88. Zandona E., Blažić M., Režek Jambrak A. Whey utilisation: sustainable uses and environmental approach. *Food Technology and Biotechnology*. 2021. Vol. 59, № 2. P. 147-161. URL: <https://doi.org/10.17113/ftb.59.02.21.6968>

ДОДАТОК А





CERTIFICATE of participation

Maksym Danyliuk

took part in the 5th International Scientific and Practical Conference
«SCIENTIFIC EXPLORATION: BRIDGING THEORY AND PRACTICE»

24 Hours of Participation
(0,8 ECTS credits)








Head of the
organizing committee
Helen Volokitina




EOSS-25/1020-041



October 20-22, 2025, Berlin, Germany



eooss-conf.com

**Сертифікат про участь в 5-й Міжнародній науково-практичній
конференції «Scientific Exploration: Bridging Theory and Practice»
(Жовтень 20-22, 2025. Берлін, Німеччина)**