

Piotr Kołakowski^{1,2}

¹ Danisco Biolacta Sp. z o.o., Wydział Innowacji, Olsztyn

Marta Kowalska²

² Instytut Innowacji Przemysłu Mleczarskiego Sp. z o.o., Mrągowo

Joanna Sędrowska-Ćwiek²

Streszczenie

Mikroflora serów odgrywa kluczową rolę w procesie ich produkcji i dojrzewania. Bierze ona udział w biochemicznej konwersji laktozy, tłuszczu i białek mleka oraz w tworzeniu cech smakowo-zapachowych sera. W skład mikroflory serów wchodzi dwie podstawowe grupy: mikroflora startowa (zasadnicza i pomocnicza) i mikroflora niestartowa. Bakterie kwasu mlekowego stanowią główną grupę zarówno mikroflory startowej jak i niestartowej. Populacja mikroflory startowej jest dominująca w początkowym okresie produkcji sera i ulega stopniowej redukcji powodowanej zmieniającymi się czynnikami środowiskowymi w procesie jego dojrzewania. W przeciwieństwie, nieliczna populacja mikroflory niestartowej w młodym serze systematycznie wzrasta w trakcie jego dojrzewania. Mikroflorę niestartową stanowi złożony kompleks w skład którego wchodzi bakterie, drożdże i pleśnie. Jej skład jakościowy i ilościowy ściśle powiązany jest z danym rodzajem sera i warunkami środowiskowymi w mleczarni. Mikroflora niestartowa, a w szczególności bakterie kwasu mlekowego i drożdże są najtrudniej kontrolowanym czynnikiem w zakładzie mleczarskim i mogą one powodować wady serów i problemy z utrzymaniem ich standardów jakościowych. W procesie produkcji i dojrzewania sera dochodzi do kompleksowych wzajemnych oddziaływań poszczególnych grup drobnoustrojów. Zastosowanie nowoczesnych technik molekularnych pozwala na szybką identyfikację izolatów drobnoustrojów na poziomie gatunkowym i szczepowym i przyczynia się do pełniejszego zrozumienia zjawiska dojrzewania serów. Artykuł opisuje najnowsze osiągnięcia w zakresie rozwoju kultur startowych i drobnoustrojów niestartowych w serowarstwie oraz ich roli w procesie produkcji i dojrzewania serów.

Słowa kluczowe: startowa i niestartowa mikroflora • bakterie kwasu mlekowego
• ser • drożdże • pleśnie

Summary

The cheese microbiota plays a central role in cheese-making. The microbiota contributes to the main biochemical conversion of lactose, fat, protein, and cheese flavor development. Cheese microbiota consists of two major groups, which are starter/adjunct and nonstarter microorganisms. Lactic acid bacteria are the most essential component of starter/adjunct as well as nonstarter microbiota. Population of starter microbiota dominates at the beginning of ripening process and gradually decreases during aging due to environmental cheese factors. On the contrary nonstarter population gradually increases from very low number in fresh cheese to high number in ripened cheese. Nonstarter microbiota is composed of complex mixtures of bacteria, yeasts and moulds, and is generally specifically associated with particular cheese varieties, and the dairy environment. Nonstarter microbiota especially nonstarter lactic acid bacteria and yeasts are the main uncontrolled factor in cheese plant and may bother cause of defects and quality inconsistencies of cheese. During cheese manufacture and ripening, complex interactions occur between individual components of cheese microbiota. Recently developed molecular techniques allow make rapid identification of individual isolates to species and strain level, and contribute to better understanding of cheese ripening phenomena. The aim of the paper was to describe recent advances in development of starter/adjunct and nonstarter cheese microbiota range and they role during both manufacture and cheese ripening.

Key words: starter and nonstarter microbiota • lactic acid bacteria • cheese
• yeasts • moulds

Adres do korespondencji:

dr inż. Piotr Kołakowski
Danisco Biolacta Sp. z o.o.
ul. Tuwima 1 A,
10-741 Olsztyn
e-mail: piotr.kolakowski@dupont.com.

Wstęp

Sery produkowane są od ponad 8000 lat. Pierwsze pisemne informacje o serach pojawiają się w Biblii a następnie u Homera i Herodotusa [56]. Do produkcji sera potrzebne jest mleko, podpuszczka, mikroorganizmy i sól. Głównymi etapami procesu technologicznego wytwarzania serów są: formowanie masy serowej, solenie i dojrzewanie. Zróżnicowanie ilościowe i jakościowe poszczególnych składników, a następnie modyfikacje etapów procesu produkcji doprowadziły do rozwoju ponad 1000 gatunków serów [55]. Podstawowym komponentem serów odgrywającym ogromną rolę w procesie ich produkcji i dojrzewania są mikroorganizmy. Mikroflora determinuje nie tylko unikalne właściwości sensoryczne poszczególnych gatunków sera, ale może również powodować duże zróżnicowanie jakości sensorycznej serów w obrębie tego samego gatunku. Z powodu ograniczonych możliwości kontroli rozwoju mikroflory w serze może być ona również przyczyną wielu wad sera i dużego zróżnicowania jego jakości w zakładzie mleczarskim.

W serze występują dwie zasadnicze grupy drobnoustrojów: pierwsza grupa to drobnoustroje startowe dodawane na różnych etapach produkcji sera najczęściej do mleka w celu ukierunkowania procesu wyrobu i dojrzewania sera, natomiast drugą grupę stanowią drobnoustroje niestartowe (rodzime), których źródłem może być zarówno mleko, jak i urządzenia oraz środowisko w jakim przebiega proces produkcyjny solanka, wyposażenie, powietrze itp. wchodzące w kontakt z serem w sposób niekontrolowany lub kontrolowany w bardzo ograniczonym stopniu [4, 7, 8, 9, 28, 30, 36, 38, 48, 52, 58, 61, 63, 64, 66, 70, 71].

Mikroflora startowa

Mikroflorę startową stosowaną w produkcji serowarskiej można podzielić na dwie podstawowe grupy:

- mikroflorę zasadniczą,
- mikroflorę pomocniczą (dodatkową).

W skład grupy zasadniczej wchodzi mezofilne i termofilne bakterie kwasu mlekowego (z angielskiego starter lactic acid bacteria SLAB) natomiast mikroflorę pomocniczą stanowią bakterie propionowe, drobnoustroje maziowe, pleśnie, drożdże oraz drobnoustroje probiotyczne [8]. Skład mikroflory startowej poszczególnych rodzajów sera przedstawia tabela nr 1 opracowana głównie w oparciu o najnowsze katalogi, biuletyny i materiały informacyjne dwóch największych producentów kultur serowarskich na świecie DuPont (dawne Danisco) i Chr. Hansen [11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 24, 49]

W produkcji sera mikroflora startowa spełnia następującą rolę:

- a) Produkuje kwas mlekowy w wyniku fermentacji laktozy;
- b) Bierze udział w tworzeniu struktury i cech smakowych

sera poprzez rozkład białek i tłuszczu w procesie dojrzewania;

- c) Wytwarza prawidłowe charakterystyczne dla danego gatunku sera oczkowanie;
- d) Nadaje serom typową barwę i wygląd;
- e) Może nadawać serom właściwości probiotyczne;
- f) Hamuje rozwój mikroflory niepożądaną poprzez produkcję kwasu mlekowego i współzawodnictwo o dostępne substraty [11].

Starterowe bakterie fermentacji mlekowej

Zasadnicza mikroflora startowa (starter lactic acid bacteria SLAB) powinna być w stanie obniżyć pH mleka poniżej wartości 5,3, w czasie 6 godzin, w temperaturze 30-37°C [8]. O szybkości ukwaszania mleka i produkcji kwasu mlekowego decydują przede wszystkim bakterie startowe z gatunków *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* i *Streptococcus thermophilus* i w znacznie mniejszym stopniu bakterie z rodzaju *Lactobacillus*, *Leuconostoc* oraz gatunku *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*. Bakterie z rodzaju *Leuconostoc*, a przede wszystkim gatunku *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* są dodawane do mleka w celu uzyskania pożądanego oczkowania niektórych gatunków sera i produkcji związków smakowych w wyniku fermentacji cytrynianów. Należy jednak podkreślić tendencje do coraz powszechniejszego eliminowania udziału bakterii z rodzaju *Leuconostoc* w kulturach serowarskich i zastępowanie ich bakteriami z gatunku *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*. Podwyższona zawartość bakterii z rodzaju *Leuconostoc* jest utrzymywana w kulturach do produkcji serów z przerostem pleśni, w celu wytworzenia zwiększonej ilości gazu i utworzenia wolnych przestrzeni w serze dla penetracji powietrza niezbędnego do rozwoju pleśni *Penicillium roqueforti* [12].

Bakterie z rodzaju *Lactobacillus* stosowane są w serowarstwie przede wszystkim do prowadzenia ukierunkowanego procesu proteolizy białek mleka. Wyjątek stanowi produkcja serów do pizzy, gdzie *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* stosowany jest do zwiększenia intensywności fermentacji laktozy (w celu zapobiegania zbyt intensywnemu brązowieniu sera na pizzie) i obniżenia jej zawartości w serze lub do niektórych gatunków serów z przerostem pleśni w celu uzyskania niskiej kwasowości gęstwy serowej [12, 17].

Startowe bakterie kwasu mlekowego (SLAB) dodawane są do mleka na początku procesu produkcji w ilości około 10^6 jtk/ml i namnażają się intensywnie osiągając z reguły liczebność $10^8 - 10^9$ jtk/g na początku procesu dojrzewania [58]. W trakcie dalszego dojrzewania sera, populacja SLAB systematycznie spada na skutek niesprzyjających warunków takich jak niska wilgotność, pH, niski potencjał redox, wysoka koncentracja kwasów organicznych, temperatura i wysoka koncentracja soli [26, 42, 58, 71]. Tempo obumierania SLAB w serze jest charakterystyczne dla danego szczepu. Ogólnie można założyć, że w serze

dojrzewającym przez 2-miesiące znajduje się mniej niż 1% maksymalnej ilości SLAB, notowanej po soleniu [42].

mlekowych, wewnątrzkomórkowe enzymy biorą udział w proteolizie białek i konwersji aminokwasów w związki smakowo-zapachowe.

Uwalniane, w wyniku lizy komórek startowych bakterii

Tabela 1. Charakterystyka mikroflory startowej serów dojrzewających.

Table 1. Characteristics of starter microbiota of ripening cheese.

Rodzaje serów	Wybrane charakterystyczne gatunki (nazwy serów podane zgodnie z nomenklaturą angielską)	Powszechnie stosowana mikroflora startowa
Kontynentalne (półtwarde)	Gouda, Edam, Samson, Masdammer, Saint Paulin, Havarti, Tilsit, Raclette, Manchego, Prato, Port Salut, Butterkase, Limburger	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> var. <i>diacetylactis</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Brevibacterium linens</i> <i>Brevibacterium casei</i> <i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i>
Twarde	Emmental, Gruyere, Grana Padano, Parmesan, Sbrinz, Pecorino, Appenzell, Comte	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i> <i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> <i>Enterococcus faecium</i>
Cheddaryzowane	Cheddar, Territorials, American Cheddar, Monterey Jack, Colby, Cheshire, Red Leicester, Double Gloucester, Cantal, Dunlop	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus casei</i>
Miękkie z porostem pleśni	Camembert, Siant Marcellin, Brie, Pont l'Eveque	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> var. <i>diacetylactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>cremoris</i> <i>Debaromyces hansenii</i> <i>Candida utilis</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i> <i>Penicillium camemberti</i> <i>Penicillium candidum</i> <i>Geotrichum candidum</i> <i>Verticillium lecanii</i> <i>Trichothecium domesticum</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Staphylococcus xylosus</i>
Miękkie stabilizowane z porostem pleśni	Brie, Crescenza, Munster	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> <i>Debaromyces hansenii</i> <i>Candida utilis</i> <i>Kluyveromyces lactis</i> <i>Penicillium camemberti</i> <i>Penicillium candidum</i> <i>Brevibacterium casei</i> <i>Brevibacterium linens</i> <i>Geotrichum candidum</i> <i>Staphylococcus xylosus</i>
Z przerostem pleśni typu „blue”	Roquefort, Danablu, Gorgonzola, Stilton	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> var. <i>diacetylactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>cremoris</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>mesenteroides</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i> <i>Penicillium roqueforti</i>
Typu feta	UF Feta, Traditional Feta, feta type (Teleme, Brinza, Chanakh), Domiati	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>
Pasta filata (z masy parzonej)	Mozzarella, sery do pizzy, Provolone, Kashkaval, Scamorza	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>
O cechach probiotycznych	Dotyczy wielu gatunków sera	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium lactis</i>

Starterowe bakterie propionowe

Bakterie propionowe są stosowane w produkcji wybranych gatunków serów twardych i półtwardych w celu wytworzenia charakterystycznego oczkowania i cech sensorycznych. Najczęściej stosowanymi kulturami startowymi, w mleczarstwie, są szczepy z gatunku *Propionibacterium freudenreichii* (tabela 1). Głównymi metabolitami bakterii propionowych jest kwas propionowy i kwas octowy oraz dwutlenek węgla. Dzięki rozwojowi tych bakterii wzrasta, w serze, także zawartość witaminy B₁₂. Bakterie propionowe przyspieszają wzrost pH sera w trakcie dojrzewania poprzez zdolność metabolizmu kwasu mlekowego. Dodawane są one do mleka przerobowego w takich ilościach, aby uzyskać ich populację, w serze przed soleniem, na poziomie około 10² jtk/g sera. Należy nadmienić, że bakterie propionowe bardzo słabo rosną w mleku a ich wzrost jest najprawdopodobniej stymulowany działaniem startowych bakterii mlekowych i podpuszczki [8]. Podczas dojrzewania ich populacja w serze osiąga maksymalną wartość pomiędzy 6 a 8 tygodniem dojrzewania i wynosi zwykle 10⁸ – 10⁹ jtk/g sera. Przyspieszenie lub hamowanie wzrostu bakterii propionowych w serze sterowane jest temperaturą procesu jego dojrzewania [59]. Bakterie propionowe znacznie wolniej niż SLAB obumierają w serze w procesie jego dalszego dojrzewania.

Starterowe bakterie do produkcji serów maziowych

Szczepy z gatunku *Brevibacterium lines* i *Brevibacterium casei* są najczęściej stosowanymi kulturami do produkcji serów maziowych, których głównymi przedstawicielami są ser Limburger (limburski) i ser Münster. *Brevibacterie* spełniają w produkcji serów trzy podstawowe funkcje:

- Nadają serom właściwy kolor ;
- Tworzą charakterystyczne związki smakowo-zapachowe;
- Chronią sery przed rozwojem pleśni.

W zależności od zastosowanych szczepów, pozwalają uzyskać kolor sera od intensywnie czerwonego poprzez pomarańczowy do kremowego [8, 11, 36].

Drożdże

Kultury startowe drożdży stosowane są głównie w produkcji pleśniowych serów miękkich, serów pielęgnowanych na maź i serów z przerostem pleśni. Startowe drożdże powinny charakteryzować się szybkim wzrostem, wysoką dynamiką utylizacji kwasu mlekowego, tolerancją na wysokie stężenie soli i na wysoką kwasowość sera. Drożdże odgrywają wiele funkcji w procesie dojrzewania serów:

- Metabolizują kwas mlekowy skutkując obniżeniem kwasowości powierzchni sera;
- Promują wzrost i aktywność pożądaných mikroorganizmów wrażliwych na wysokie stężenie kwasu mlekowego (np. *Brevibacterium linens*);
- Zwiększają wskaźnik przeżywalności startowych bakterii mlekowych w procesie dojrzewania serów;

- Hamują rozwój mikroflory niepożądanę w serze, a w szczególności na jego powierzchni;
- Tworzą związki smakowo-zapachowe sera, w wyniku wysokich uzdolnień proteolitycznych i lipolitycznych;
- Budują otwartą strukturę sera i produkują takie związki jak alkohol etylowy oraz aldehyd octowy, w wyniku fermentacji laktozy (np. *Kluyveromyces marxianus* w produkcji serów z przerostem pleśni) [8, 11, 49, 70]

Pleśnie

Pleśnie odgrywają istotną rolę w dojrzewaniu serów z porostem i przerostem pleśni. Jako kultury startowe stosowane są zarodniki (spory) pleśni w formie liofilizowanej lub w formie płynnej. Do produkcji serów z porostem pleśni stosowane są szczepy pleśni białej z gatunku *Penicillium camemberti*, *Penicillium candidum* i czasami *Geotrichum candidum* (gatunek ten występuje w trzech formach morfologicznych: szczepy tworzące formę micelarną charakterystyczną dla pleśni, szczepy tworzące kolonie charakterystyczne dla drożdży oraz szczepy występujące w formie pośredniej), a do produkcji serów z przerostem pleśni *Penicillium roqueforti*. W serowarstwie stosowane są szczepy *Penicillium roqueforti* w kolorze od jasnozielonego do koloru intensywnie niebieskiego. Najczęściej dodawane są one bezpośrednio do mleka przerobowego w koncentracji około 10⁴ sporów na mililitr mleka. Kultury startowe do produkcji serów z porostem pleśni charakteryzują się wysokimi uzdolnieniami proteolitycznymi i nieco słabszymi lipolitycznymi, natomiast do produkcji z przerostem pleśni umiarkowaną aktywnością proteolityczną, a silną lipolityczną.

Pleśnie *Penicillium candidum*, *Penicillium camemberti* i *Geotrichum candidum* spełniają następujące funkcje w produkcji sera:

- Nadają serom charakterystyczny biały wygląd;
- Chronią ser przed rozwojem na jego powierzchni niepożądanę pleśni przede wszystkim z rodzaju *Mucor* i pleśni zielonej;
- Podnoszą kwasowość sera w wyniku metabolizmu kwasu mlekowego, poprzez co wpływają znacząco na strukturę i smak sera;
- Nadają serom charakterystyczne cechy smakowo-zapachowe, w wyniku hydrolizy enzymatycznej białek i tłuszczu.

Rola *Penicillium roqueforti* w produkcji serów z przerostem pleśni polega na:

- Tworzeniu charakterystycznej barwy sera;
- Zapobieganiu rozwojowi niepożądanę pleśni;
- Tworzeniu typowych cech sensorycznych i kremowej konsystencji dla tych gatunków sera [8, 11]

Mikroflora niestartowa

W skład mikroflory niestartowej wchodzi przede wszystkim niestartowe bakterie mlekowe (NSLAB) takie jak *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*

Enterococcus, *Weissella*, bakterie propionowe i wiele gatunków drożdży (Tabela nr 2) [5, 6, 7, 8, 10, 19, 20, 21, 23, 27, 28, 31, 32, 35, 38, 41, 44, 45, 48, 50, 51, 52, 54, 58, 60, 61, 64, 65, 69, 70]. Populacja i rodzaj niestartowej mikroflory w serach jest zależny od: ich początkowej ilości i rodzaju w surowym mleku, biofilmów formowanych na sprzęcie mleczarskim, jakości mikrobiologicznej solanki oraz zdolności poszczególnych gatunków do przeżywania i konkurowania w „serowym ekosystemie” (pH, temperatura, dostępność składników pokarmowych) [8, 10, 39, 48, 70].

Niestartowe bakterie mlekowe (NSLAB)

Po raz pierwszy niestartowe LAB zostały wyizolowane z sera w 1912 roku [19]. NSLAB rosną bardzo słabo w mleku i praktycznie nie biorą udziału w procesie ukwaszania mleka [8, 9, 19]. Są w stanie namnażać się w serach w procesie dojrzewania i znacznie przewyższają liczebność startowych bakterii mlekowych, których populacja systematycznie spada w procesie dojrzewania. W serze po soleniu NSLAB obecne są na poziomie od 10^1 do 10^4 jtk/g, a ich populacja wzrasta intensywnie nierzadko osiągając liczebność 10^7 - 10^8 jtk/g, po kilku tygodniach dojrzewania [1, 5, 10, 22, 29, 37, 38, 43, 64]. Warunki dojrzewania i skład sera w minimalnym stopniu wpływają na tempo ich wzrostu i poziom populacji. NSLAB są w stanie namnażać się w środowisku o niskiej zawartości wody poniżej 39%, wysokiej koncentracji soli do 6%, szerokim zakresie kwasowości i temperaturze poniżej 13°C [39]. Nawet w serze Parmigiano Reggiano, o przedłużonym dojrzewaniu do 24 miesięcy, powszechnie uważanym za produkt jałowy stwierdzono obecność NSLAB z rodzaju *Lactobacillus* i *Pediococcus* na poziomie 10^4 jtk/g [22]. Najliczniej reprezentowanym rodzajem NSLAB w serach są mezofilne bakterie *Lactobacillus* zdolne do wzrostu w szerokim zakresie temperatur.

Tradycyjnie bakterie z rodzaju *Lactobacillus* można podzielić na trzy grupy:

(I) obligatoryjnie homofermentatywne fermentujące heksozy do kwasu mlekowego, lecz nierozkładające pentoz;

(II) fakultatywnie homofermentatywne przeprowadzające heterofermentację pentoz z wytworzeniem kwasu mlekowego i octowego oraz homofermentację heksoz i

(III) obligatoryjnie heterofermentatywne wytwarzające kwas mlekowy, octowy i CO₂ w szlaku fosfoketolazy.

W serach dominują bakterie z rodzaju *Lactobacillus* z grupy II i III należące do następujących gatunków: *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. paraplantarum*, *Lb. pentosus*, *Lb. brevis*, *Lb. curvatus*, *Lb. fermentum*, *Lb. buchneri*, *Lb. parabuchneri*, *Lb. coryniformis*, *Lb. kefir* i *Lb. rhamnosus*. Choć na początku procesu dojrzewania sera populacja niestartowych bakterii *Lactobacillus* jest z reguły bardzo zróżnicowana pod względem gatunkowym i szczepowym to jednak ulega zdecydowanemu zubożeniu w trakcie dalszego dojrzewania [4]. NSLAB posiadają wiele hydrolytycznych enzymów: endopeptydazy, aminopeptydazy, karboksypeptydazy, dipeptydazy, tripeptydazy, lipazy

Tabela 2. Niestarterowe mikroorganizmy izolowane z serów.
Table 2. Nonstarter microorganisms isolated from cheeses.

Rodzaj mikroflory	Charakterystyczne gatunki
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus paraplantarum</i> <i>Lactobacillus pentosus</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus curvatus</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus buchneri</i> <i>Lactobacillus parabuchnerii</i> <i>Lactobacillus bifermens</i> <i>Lactobacillus collinoides</i> <i>Lactobacillus farciminis</i> <i>Lactobacillus kefir</i> <i>Lactobacillus coryniformis</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus durans</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus hirae</i> <i>Enterococcus malodoratus</i> <i>Enterococcus gilvus</i> <i>Enterococcus casseliflavus</i> <i>Enterococcus italicus</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus garviae</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Leuconostoc garlicum</i> <i>Leuconostoc citreum</i>
<i>Weissella</i>	<i>Weissella paramesenteroides</i> <i>Weissella viridescens</i> <i>Weissella halotolerans</i>
<i>Saccharomyces</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Saccharomyces unisporus</i> <i>Saccharomyces exiguus</i>
<i>Debaromyces</i>	<i>Debaromyces hansenii</i>
<i>Candida</i>	<i>Candida catenulata</i> <i>Candida laurentii</i> <i>Candida famata</i> <i>Candida utilis</i> <i>Candida krusei</i> <i>Candida rugosa</i> <i>Candida kefir</i> <i>Candida sphaerica</i> <i>Candida lipolytica</i> <i>Candida tenuis</i> <i>Candida intermedia</i> <i>Candida zeylanoides</i> <i>Candida sake</i> <i>Candida versatilis</i>
<i>Pichia</i>	<i>Pichia fermentans</i> <i>Pichia jadinii</i> <i>Pichia kluyveri</i> <i>Pichia anomala</i> <i>Pichia pseudocactophila</i> <i>Pichia membranifaciens</i>
<i>Torulaspora</i>	<i>Torulaspora delbrueckii</i>
<i>Kluyveromyces</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>marxianus</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>bulgaricus</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i>
<i>Geotrichum</i>	<i>Geotrichum candidum</i> <i>Geotrichum capitatum</i>
<i>Trichosporon</i>	<i>Trichosporon pullulans</i> <i>Trichosporon cutaneum</i> (<i>beigelii</i>)
<i>Yarrowia</i>	<i>Yarrowia lipolytica</i>
<i>Zygosaccharomyces</i>	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>
<i>Rhodotorula</i>	<i>Rhodotorula glutinis</i> <i>Rhodotorula minuta</i> <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (<i>rubra</i>)
<i>Clavispora</i>	<i>Clavispora lusitaniae</i>
<i>Sporobolomyces</i>	<i>Sporobolomyces roseus</i>
<i>Williopsis</i>	<i>Williopsis californica</i>
<i>Issatchenkia</i>	<i>Issatchenkia orientalis</i>
<i>Cryptococcus</i>	<i>Cryptococcus albidus</i> <i>Cryptococcus laurentii</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i> <i>Propionibacterium jensenii</i> <i>Propionibacterium thoenii</i> <i>Propionibacterium acidipropionici</i> <i>Propionibacterium cyclohexanicum</i> <i>Propionibacterium coccoides</i>

i esterazy, które wpływają istotnie na proces dojrzewania i formowanie pozytywnych cech sensorycznych serów, w wyniku rozkładu białek i tłuszczu mleka. NSLAB są też źródłem specyficznych enzymów, które mogą produkować charakterystyczne związki smakowo-zapachowe [7, 8, 29, 58]. Przykładem może być metanotiol produkowany z metioniny przy udziale liazy lub aminotransferazy metioninowej wytwarzanej między innymi przez *Lactobacillus plantarum* i *Lactobacillus casei*. Innym przykładem jest α -ketoglutaran otrzymywany z glutaminianu przy udziale dehydrogenazy glutaminianowej (GDH) z *Lactobacillus plantarum* i *Lactobacillus fermentum* [4, 46]. Zdolność produkcji benzaldehydu, który zaraz po wanilinie jest drugim najważniejszym składnikiem poprawiającym smak sera stwierdzono u *Lactobacillus plantarum*, który syntetyzuje transaminazę przeprowadzającą przemianę fenyloalaniny do fenylopirogrobianu, który to związek ulega następnie degradacji do benzaldehydu [7]. Bakterie te posiadają również zdolność produkcji bakteriocyn zmniejszających ryzyko wzrostu pleśni, mikroflory patogennej i gnilnej [58]. Oprócz pozytywnej roli NSLAB w procesie produkcji sera polegającej na skróceniu jego procesu dojrzewania i produkcji wielu związków smakowo-zapachowych, produkują one również wiele substancji o nieprzyjemnym smaku i zapachu. Mogą być również one przyczyną wad i dużej zmienności jakości sera nawet w obrębie warów produkowanych w tym samym zakładzie, w danym dniu. Przykładowo NSLAB są między innymi odpowiedzialne za powstawanie białych plam w serach (najbardziej udokumentowany jest ten problem w produkcji sera Cheddar), które są wynikiem zdolności katalizowania przez nie przemiany L-mleczanu do D-mleczanu i tworzenia się nierozpuszczalnych w wodzie kryształów [1, 25]. NSLAB często mogą wykazywać antagonistyczny wpływ na wzrost bakterii propionowych i powodować wady w postaci pęknięć i brązowych plam na serze. Problemy te zaobserwowano między innymi w serach typu Gruyere, Emmentaler i Appenzeler i związane są najprawdopodobniej z obecnością *Lactobacillus casei* i *Lactobacillus rhamnosus* [34]. Mogą one powodować też akumulację gorzkich peptydów w serach [3]. Właściwa kontrola nad rozwojem niestartowych bakterii kwasu mlekowego wydaje się więc być niezbędną w technologicznym procesie produkcji sera.

Niestartowe drożdże

Obecność drożdży w serze jest powszechna z uwagi na ich tolerancję na niskie pH, wilgotność i temperaturę oraz umiarkowaną tolerancję na wysokie stężenie soli [28, 70]. Źródłem ich obecności mogą być przede wszystkim: mleko, powietrze, pomieszczenia laboratoryjne, sprzęt stosowany w produkcji serów, solanka, pracownicy [2, 43, 65, 66, 68, 70]. Największym i najczęstszym źródłem kontaminacji serów drożdżami jest solanka [57, 63, 70]. Niektóre gatunki drożdży (*Debaryomyces hansenii*, *Candida versatilis*, *Torulasporea delbrueckii*) wykazują wysoką oporność na środki sanitoryzacyjne [40].

Ser jest dobrym środowiskiem dla rozwoju drożdży m.in. ze względu na występującą w nim laktozę, która stanowi główne źródło energii do ich wzrostu i fermentacji. Drożdże rozwijają się intensywnie na powierzchni sera w pierwszym okresie jego dojrzewania osiągając z reguły maksymalną liczbę po 10 dniach wynoszącą od 10^6 nawet do 10^9 jtk/cm² sera. W trakcie dojrzewania sera, ich ilość pozostaje prawie w niezmiennym poziomie około 10^7 jtk/cm² dojrzalego sera i ulega jedynie niewielkiej redukcji. Wewnątrz serów, szczególnie serów miękkich, następuje równoległy rozwój drożdży z tym, że ich populacja jest niższa o 2 do 4 rzędów wielkości. Z reguły wysoką populacją drożdży charakteryzują się sery z porostem i przerostem pleśni [70]. Drożdże mogą mieć duży wpływ na rozwój bakterii w serze, który w zależności od składu drożdży i bakterii w serze jest bardzo zróżnicowany [47, 62]. Skład niestartowych drożdży izolowanych z serów wykazuje ogromną bioróżnorodność gatunkową i szczepową (tabela 2). Wielkość populacji niestartowych drożdży i ich zróżnicowanie gatunkowe w serze, szczególnie we wstępnej fazie jego dojrzewania, bardzo ściśle związane są z danym zakładem produkcyjnym.

Niestartowe drożdże mogą odgrywać pozytywną rolę w procesie dojrzewania sera omówioną w paragrafie dotyczącym drożdży startowych, ale mogą również być przyczyną wielu wad sera [33, 70]. Drożdże są odpowiedzialne za przebarwienia, niepożądane cechy sensoryczne, a w szczególności drożdżowy lub owocowy posmak, wytwarzanie gorzkiego i zjełczanego smaku, nadmierne odkwaszenie masy serowej i niepożądane zmiany tekstury serów, tworzenie śluzu [28, 62, 66]. Przykładowo w serach miękkich drożdże mogą powodować nadmierne gazowanie i wady smakowe [67, 68]. W serach o dłuższym okresie dojrzewania drożdże produkujące tyrozinazę (np. *Yarrowia lipolytica*) mogą być odpowiedzialne za efekt powstawania brązowych przebarwień [53]. Zmiana tekstury sera wskutek przyspieszonej proteolizy białek przez enzymy drożdży może utrudniać proces ich plastowania.

Podsumowanie

Mikroflora serów dojrzewających jest krytycznym czynnikiem, który może powodować zróżnicowanie jakości i wady serów. Szczególne znaczenie ma właściwa kontrola rozwoju mikroflory niestartowej w serach, co nie jest praktykowane w większości zakładów mleczarskich. Pomimo wielu badań wskazujących na możliwą pozytywną rolę mikroflory niestartowej istnieją ograniczone możliwości ukierunkowania i powtarzalności procesu dojrzewania serów z jej udziałem. Nadmierny rozwój mikroflory niestartowej może prowadzić do niekontrolowanego procesu dojrzewania i wielu wad sera. Nieodzowne wydaje się więc przestrzeganie zasad higieny oraz sanityzacja miejsc produkcyjnych tak, aby zapewnić w procesie technologicznym rozwój mikroflory pożądanej. Najlepszym sposobem uzyskania dobrej powtarzalności procesu i wysokiej jakości serów, o charakterystycznych wyróżniających cechach sensorycznych, jest

bowiem ograniczanie wzrostu przypadkowej mikroflory niestartowej poprzez podnoszenie higieny produkcji

i ukierunkowanie procesu dojrzewania w wyniku selekcji pomocniczej mikroflory startowej.

Literatura:

1. Agarwal S., Sharma K., Swanson B.G., Yuksel G.U., Clark S., Nonstarter lactic acid bacteria biofilms and calcium lactate crystals in Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.*, 2006, 89, 1452-1466.
2. Alessandria V., Dolci P., Rantsiou K., Pattono D., Dalmasso A., Civera T., Coccolin L., Microbiota of the Planalto de Bolona: an artisanal cheese produced in uncommon environmental conditions in the Cape Verde Islands. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2010, 26, 2211-2221.
3. Arihara K., Luchansky J.B., Dairy *Lactobacilli* in Food Biotechnology: microorganisms (ed) Y.H. Hui, G.G. Khachatourians, 1995, VCH Pbl, New York, 609-643.
4. Banks J.M., Williams A.G., The role of the nonstarter lactic acid bacteria in Cheddar cheese ripening. *Int. J. Dairy Technol.*, 2004, 57, 145-152.
5. Barakat O.S., Ibrahim G.A., Tawfik N.F., El-Kholy W.I., Gad El-Rab A.A., Identification and probiotic characteristics of *Lactobacillus* strains isolated from traditional Domiati cheese. *Int. J. Microbiol. Res.*, 2011, 3, 59-66.
6. Belletti N., Gatti M., Bottari B., Neviani E., Tabanelli G., Gardini F., Antibiotic resistance of lactobacilli isolated from two Italian hard cheese. *J. Food Prot.*, 2009, 72, 2162-2169.
7. Beresford T.P., Coagan T.M., Biodiversity of cheese microflora and its role in cheese flavor development. End of project report. Moorepark Food Research Centre No. 63.
8. Beresford T.P., Fitzsimons N.A., Brennan N.L., Cogan T.M., Recent advances in cheese microbiology. *Int. Dairy J.*, 2001, 11, 259-274.
9. Briggiler-Marco M., Capra M.L., Quiberoni A., Vinderola G., Reinheimer J.A., Hynes E., Nonstarter *Lactobacillus* strains as adjunct cultures for cheese making: in vitro characterization and performance in two model cheeses. *J. Dairy Sci.*, 2007, 90, 4532-4542.
10. Ciprovica I., Mikelsone A., The influence of ripening temperature on diversity of non-starter lactic acid bacteria in semi-hard cheeses. *Romanian Biotechnol. Lett.*, 2011, 16, 155-162.
11. CHOOZIT™ cheese cultures – the natural choice from artisan to industrial cheese – Danisco Bulletin.
12. CHOOZIT™ selection guide – for blue cheese types - Danisco Bulletin.
13. CHOOZIT™ selection guide – for Cheddar & American cheese types - Danisco Bulletin.
14. CHOOZIT™ selection guide – for continental cheese types - Danisco Bulletin.
15. CHOOZIT™ selection guide – for feta cheese types - Danisco Bulletin.
16. CHOOZIT™ selection guide – for hard cheese types - Danisco Bulletin.
17. CHOOZIT™ selection guide – for pasta filata cheese types - Danisco Bulletin.
18. CHOOZIT™ selection guide – for soft stabilized cheese types - Danisco Bulletin.
19. Cogan T.M., Beresford T.P., Steele J., Broadben J., Shah N.P., Ustunol Z., Invited review: advances in starter cultures and cultured foods. *J. Dairy Sci.*, 2007, 90, 4005-4021.
20. Colombo E., Borgo F., Fortina M.G., Genotypic characterization of non starter lactic acid bacteria involved in the ripening of artisanal Bitto PDO cheese. *J. Basic Microbiol.*, 2009, 49, 521-530.
21. Colombo E., Franzetti L., Frusca M., Scarpellini M., Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Italian goat cheese. *J. Food Prot.*, 2010, 73, 657-662.
22. Coppola R., Nanni M., Iorizzo M., Sorrentino E., Grazia L., Survey of lactic acid bacteria isolated during the advance stages of the ripening of Parmigiano Reggiano cheese. *J. Dairy Res.*, 1997, 64, 305-310.
23. Crow V., Curry B., Hayes M., The ecology of non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) and their use as adjuncts in New Zealand Cheddar. *Int. J. Dairy*, 2001, 11, 275-283.
24. DUPONT™ Danisco® cheese cultures selection guide for lactic curd traditional soft cheese types – DuPont Bulletin.
25. Dybing S.T., Wiegand J.A., Brudvig S.A., Huang E.A., Chandan R.C., Effect of processing variables on the formation of calcium lactate crystals in Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.*, 1998, 71, 1701-1710.
26. Fitzsimons N.A., Cogan T.M., Condon S., Beresford T., Spatial and temporal distribution of non-starter lactic acid bacteria in Cheddar cheese. *J. Appl. Microbiol.*, 2001, 90, 600-6008.
27. Fitzsimons N.A., Cogan T.M., Condon S., Beresford T., Phenotypic and genotypic characterization of non-starter lactic acid bacteria in mature Cheddar cheese. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, 65, 3418-3426.
28. Fleet G.H., Yeasts in dairy products. *J. Appl. Bacteriol.*, 1990, 68, 199-211.
29. Fox P.F., Mc Sweeney P.L.H., Cogan T.M., Guinee T.P., Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, 2004, Elsevier, London, UK.
30. Fox P.F., McSweeney P.L.H., Lynch C.M., Significance of non-starter lactic acid bacteria in Cheddar cheese. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1998, 53, 83-89.
31. Gala E., Landi S., Solieri L., Nocetti M., Pulvirenti A., Giudici P., Diversity of lactic acid bacteria population in ripened Parmigiano Reggiano cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 2008, 125, 347-351.
32. Ghotbi M., Soleimani-Zad S., Sheikh-Zeinoddin M., Identification of *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus paraplantarum* and *Lactobacillus plantarum* in Lighvan cheese with 4 month ripening period by means of *recA* gene sequence analysis. *African J. Biotechnol.*, 2011, 10, 1902-1906.
33. Jakobsen M., Narvhus J., Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. *Int. Dairy J.*, 1996, 6, 755-768.
34. Jimeno J., Lazaro M.J., Sollberger H., Antagonistic interactions between propionic acid bacteria and non-starter lactic acid bacteria. *Lait*, 1995, 75, 401-413.
35. Jokovic N., Vukasinovic M., Veljovic K., Topisirovic L., Characterization of non-starter lactic acid bacteria in traditionally produced home-made Radan cheese during ripening. *Arch. Biol. Sci.*, 2011, 63, 1-10.

36. Kołakowski P., Podolak R., Kowalska M., Lactic acid bacteria and yeast profile in Polish ripened cheeses. *Milchwissenschaft*, 2012, 67, 285-288.
37. Kołakowski P., Podolak R., Kowalska M., Microbial profile of Gouda cheese during ripening in two independent chambers – a short report. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2012, 3, 179-184.
38. Kongo J.M., Gomes A.M., Malcata F.X., McSweeney P.L.H., Microbiological, biochemical and compositional changes during ripening of Sao Jorge – a raw milk cheese from the Azores (Portugal). *Food Chem.*, 2009, 112, 131-138.
39. Lane C.N., Fox P.F., Walsh E.M., Folkertsma B., McSweeney P.L.H., Effect of compositional and environmental factors on the growth of indigenous non-starter lactic acid bacteria in Cheddar cheese. *Lait*, 1997, 77, 561-573.
40. Laubscher P.J., Viljoen B.C., The resistance of dairy yeasts against commercially available cleaning compounds and sanitizers. *Food Technol. Biotechnol.*, 1999, 37, 281-286.
41. Martin-Platero A.M., Valdivia E., Maqueda M., Martin-Sanchez I., Martinez-Bueno M., Polyphasic approach to bacterial dynamics during the ripening of Spanish farmhouse cheese, using culture-dependent and -independent methods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008, 74, 5662-5673.
42. McSweeney P.L.H., Walsh E.M., Fox P.F., Cogan T.M., Drinan F.D., Castelo-Gonzalez M., A procedure for the manufacture of Cheddar cheese under controlled bacteriological conditions and the effect of adjunct lactobacilli on cheese quality. *Irish J. Agric. Food Res.*, 1994, 33, 183-192.
43. Mirzaei H., Microbiological changes in Lighvan cheese throughout its manufacture and ripening. *African J. Microbiol. Res.*, 2011, 5, 1609-1614.
44. Mlalazi M., Winslow A.R., Beaubrun J. J-G., Eribo B.E., Occurrence of pediocin PA-1/AcH-like bacteriocin in native non-starter *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus rhamnosus* from retail Cheddar cheese. *Internet J. Food Safety*, 2011, 13, 325-331.
45. Morales F., Morales J.I., Hernandez C.H., Hernandez-Sanchez H., Isolation and partial characterization of halotolerant lactic acid bacteria from two Mexican cheeses. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2011, 164, 889-905.
46. Morishita T., Yajima M., Incomplete operation of biosynthetic and bioenergetic functions of the citric acid cycle in multiple auxotrophic lactobacilli. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1995, 59, 251-255.
47. Mounier J., Monnet C., Vallaeyts T., Arditi R., Sarthou A.S., Helias A., Irlinger F., Microbial interactions within a cheese microbial community. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008, 74, 172-181.
48. Peterson S.D., Marshall R.T., Non-starter lactobacilli in Cheddar cheese: a review. *J. Dairy Sci.*, 1990, 73, 1395-1410.
49. Product range: Dairy cultures and enzymes – Chr. Hansen Bulletin.
50. Randazzo C.L., De Luca S., Todaro A., Restuccia C., Lanza C.M., Spagna G., Caggia C., Preliminary characterization of wild lactic acid bacteria and their abilities to produce flavor compounds in ripened model cheese system. *J. Appl. Microbiol.*, 2007, 103, 427-435.
51. Randazzo C.L., Pitino L., Ribbera A., Caggia C., Pecorino Crotonese cheese: study of bacterial population and flavor compounds. *Food Microbiol.*, 2010, 27, 363-374.
52. Rantsiou K., Urso R., Dolci P., Comi G., Cocolin L., Microflora of Feta cheese from four Greek manufactures. *Int. J. Food Microbiol.*, 2008, 126, 36-42.
53. Ross H.M., Harden T.J. Nichol A.W., Deeth H.C., Isolation and investigation of microorganisms causing brown defects in mould ripened cheeses. *Aust. J. Dairy Tech.*, 2000, 55, 5-8.
54. Samelis J., Kakouri A., Pappa E.C., Matijasic B.B., Georgalaki M.D., Tsakalidou E., Rogelj A., Microbial stability and safety of traditional Greek Graviera cheese: characterization of the lactic acid bacterial flora and culture-independent detection of bacteriocin genes in the ripened cheeses and their microbial consortia. *J. Food Prot.*, 2010, 73, 1294-1303.
55. Sandine W.E., Elliker, P.R., Microbially induced flavours and fermented foods flavour in fermented dairy products. *J. Agric. Food Chem.*, 1970, 18, 557-562.
56. Scott R., Cheesemaking practice, Applied Science Publishers Ltd, Barking, 1981.
57. Seiler H., Busse M., The yeasts of cheese brines. *Int. J. Food Microbiol.*, 1990, 11, 289-304.
58. Settanni L., Moschetti G., Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food Microbiol.*, 2010, 27, 691-697.
59. Steffen C., Eberhard P., Bosset J.O., Ruegg M., Swiss type varieties. In P.F. Fox (ed.) *Cheese: chemistry, physics and microbiology*, London, Elsevier Applied Science, 1993, 2, 83-110.
60. Svec P., Drab V., Sedlacek I., Ribotyping of *Lactobacillus casei* group strains isolated from dairy products. *Folia Microbiol.*, 2005, 50, 223-228.
61. Terzic-Vidojevic A., Tolinacki M., Nikolic M., Lozo J., Begovic J., Gulahmadov S.G.O., Kuliev A.A., Dalgalarondo M., Chobert J-M., Haertle T., Topisirovic L., Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from Azerbaijani traditional dairy products. *African J. Biotechnol.*, 2009, 8, 2576-2588.
62. Viljoen B.C., The interaction between yeasts and bacteria in dairy environments. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, 69, 37-44.
63. Viljoen B.C., Greyling T., Yeast associated with Cheddar and Gouda making. *Int. J. Food Microbiol.*, 1995, 28, 79-88.
64. Veljovic K., Terzic-Vidojevic A., Vukasinovic M., Strahinic I., Begovic J., Lozo J., Ostojic M., Topisirovic L., Preliminary characterization of lactic acid bacteria isolated from Zlatar cheese. *J. Appl. Microbiol.*, 2007, 103, 2142-2152.
65. Welthagen J.J., Viljoen B.C., The isolation and identification of yeasts obtained during manufacture and ripening of Cheddar cheese. *Food Microbiol.*, 1999, 16, 63-73.
66. Welthagen J.J., Viljoen B.C., Yeast profile in Gouda cheese during processing and ripening. *Int. J. Food Microbiol.*, 1998, 41, 185-194.
67. Westall S., Filtenborg O., Spoilage yeasts of decorated soft cheese packed in modified atmosphere. *Food Microbiol.*, 1998, 15, 243-249.
68. Westall S., Filtenborg O., Yeast occurrence in Danish feta cheese. *Food Microbiol.*, 1998, 15, 215-222.
69. Williams A.G., Withers S.E. Banks J.M., Energy sources of non-starter lactic acid bacteria isolated from Cheddar cheese. *Int. Dairy J.*, 2000, 10, 17-23.
70. Wyder M.T., Yeasts in dairy products. Publisher FAM Swiss Federal Dairy Research Station Liebefeld, Berne, Switzerland, 2001, 425, 1-21.
71. Zago M., Fornasari M.E., Rossetti L., Bonvini B., Scano L., Carminati D., Giraffa G., Population dynamics of lactobacilli in Grana cheese. *Annals Microbiol.*, 2007, 57, 349-353.