



УНИВЕРЗИТЕТ „СВ.КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“ – БИТОЛА  
ТЕХНОЛОШКО-ТЕХНИЧКИ ФАКУЛТЕТ – ВЕЛЕС



**„МИКРОБНА ДИНАМИКА И КАРАКТЕРИЗАЦИЈА НА  
АВТОХТОНИ МЛЕЧНОКИСЕЛИ БАКТЕРИИ ВО  
ТРАДИЦИОНАЛНО ПРОИЗВЕДЕНО БЕЛО САЛАМУРЕНО КОЗЈО  
СИРЕЊЕ“**

**ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА**

**МЕНТОР**

**Ред. проф. д-р Даниела Николовска Неделкоска**

**КАНДИДАТ**

**М-р Хава Мифтари**

**Велес, 2026 година**

**ЧЛЕНОВИ НА КОМИСИЈА:**

**Ред. проф. д-р Даниела Николовска Неделкоска, ментор**  
Технолошко-технички факултет – Велес,  
Универзитет „Св. Климент Охридски“ – Битола

---

**Ред. проф. д-р Татјана Калевска, член**  
Технолошко-технички факултет – Велес,  
Универзитет „Св. Климент Охридски“ – Битола

---

**Вонр. проф. д-р Татјана Блажевска, член**  
Технолошко-технички факултет – Велес,  
Универзитет „Св. Климент Охридски“ – Битола

---

**Вонр. проф. д-р Исмаил Ферати, член**  
Факултет за прехранбена технологија и исхрана,  
Универзитет во Тетово

---

**Вонр. проф. д-р Везирка Јанкулоска, член**  
Технолошко-технички факултет – Велес,  
Универзитет „Св. Климент Охридски“ – Битола

---

## ИЗЈАВА ЗА ОРИГИНАЛНОСТ НА ТРУДОТ

Јас, м-р Хава Мифтари, кандидат за одбрана на докторската дисертација, со наслов **„МИКРОБНА ДИНАМИКА И КАРАКТЕРИЗАЦИЈА НА АВТОХТОНИ МЛЕЧНОКИСЕЛИ БАКТЕРИИ ВО ТРАДИЦИОНАЛНО ПРОИЗВЕДЕНО БЕЛО САЛАМУРЕНО КОЗЈО СИРЕЊЕ“**, изјавувам под морална, материјална и друга одговорност, дека при изработката на трудот ги почитувам позитивните законски прописи од областа на заштитата на интелектуалната сопственост и не користев трудови на други автори без да бидат почитувани пропишаните методолошки стандарди. Користената литература ја бележев во подбелешките и во литературата, составен дел од темата. Тоа значи дека трудот е оригинален, не е плагијат.

Велес, 2026

Кандидат: м-р Хава Мифтари

## ИЗЈАВА ЗА ЛЕКТОРИРАЊЕ НА ДОКТОРСКИОТ ТРУД

Јас, м-р Хава Мифтари, студент на трет циклус студии, на студиската програма: Иновативни технологии за храна и нутриционизам, со број на досие 14, изјавувам дека докторската дисертација со наслов **„МИКРОБНА ДИНАМИКА И КАРАКТЕРИЗАЦИЈА НА АВТОХТОНИ МЛЕЧНОКИСЕЛИ БАКТЕРИИ ВО ТРАДИЦИОНАЛНО ПРОИЗВЕДЕНО БЕЛО САЛАМУРЕНО КОЗЈО СИРЕЊЕ“**, е лекторирана од лекторката д-р Благојка Здравковска-Адамова.

Извршеното лекторирање е документирано на соодветен начин во моето досие.

Велес, 2026

Кандидат: м-р Хава Мифтари

**Трудови објавени од областа на докторатот**

Hava Miftari, Tatjana Kalevska, Tatjana Blazevska, Ismail Ferati, Daniela Nikolovska Nedelkoska (2025). SEASONAL VARIATIONS IN SENSORY CHARACTERISTICS OF TRADITIONAL WHITE BRINED GOAT CHEESE, International Journal of Food Technology and Nutrition, Vol. 8, No. 15-16, 119-124. <https://doi.org/10.62792/ut.jftn.v8.i15-16.p2979>

Hava Miftari, Xhezair Idrizi, Gafur Xhabiri, Ismail Ferati, Daniela Nikolovska Nedelkoska (2025). CONSUMER ATTITUDES TOWARDS GOAT MILK AND GOAT MILK PRODUCTS IN NORTH MACEDONIA, Book of Proceedings of the 1<sup>st</sup> International Scientific Conference - Food Science, Nutrition, Innovative Technologies and Sustainability, University "St. Kliment Ohridski" - Bitola, Faculty of Technology and Technical Sciences - Veles, 61-69. ISBN: 978-608-67527-0-5

Hava Miftari, Daniela Nikolovska Nedelkoska, Giorgia Rampanti, Joanna Harasym, Ilario Ferrocino, Ismail Ferati, Federica Cardinali, Agnieszka Orkusz, Vesna Milanović, Irene Franciosa, Cristiana Garofalo, Lucia Aquilanti, Andrea Osimani (2026). A TASTE OF NORTH MACEDONIA: SEASONAL VARIATION IN THE MICROBIOTA, PHYSICO-CHEMICAL TRAITS, AND MORPHO-TEXTURAL PROFILE OF A TRADITIONAL BRINED RAW GOAT'S MILK CHEESE, Food Research International, Vol.231, Part 2, 118806. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2026.118806>

### **Благодарност**

*Ја изразувам својата огромна благодарност до мојата менторка, проф. д-р Даниела Николовска Неделкоска, за нејзината непроценлива насока, нејзиното трпение и за охрабрувањето во текот на целиот процес на истражување и на изработка на оваа дисертација. Длабоко сум благодарна и на проф. д-р Андреа Осимани и неговиот тим од Одделот за земјоделски, прехранбени и еколошки науки, Политехнички универзитет во Марке, Анкона, Италија за нивната несебична поддршка и за корисните совети, кои значително го збогатија овој труд. Својата благодарност ја упатувам и до членовите на комисијата за оцена на докторскиот труд, проф. д-р Татјана Калевска, проф. д-р Татјана Блажевска, проф. д-р Исмаил Ферати и проф. д-р Везирка Јанкулоска, за нивните конструктивни коментари и насоки.*

*Им благодарам на моите колеги и пријатели, чија поддршка и соработка го направија ова патување многу попријатно и исполнето. Сакам да им се заблагодарам и на производителите на сирењето, чии ресурси и соработка беа од голема важност за успешно спроведување на ова истражување.*

*Посебна благодарност упатувам до моите родители и до мојата сестра за нивната безусловна љубов, поддршка и за нивното трпение. Нивната верба во мене беше постојан извор на сила и на мотивација во текот на целиот процес.*

*М-р Хава Мифтари*

## СОДРЖИНА

СКРАТЕНИЦИ.....	9
СПИСОК НА ТАБЕЛИ .....	11
СПИСОК НА СЛИКИ .....	13
ВОВЕД .....	17
1. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА .....	20
1.1. Состав на козјо млеко .....	20
1.1.1. Протеини.....	21
1.1.2. Масти .....	23
1.1.3. Јаглехидрати .....	25
1.1.4. Минерали .....	25
1.1.5. Витамини .....	26
1.2. Производство на бело саламурено сирење.....	26
1.3. Млечнокисели бактерии.....	28
1.3.1. <i>Lactococcus</i> .....	30
1.3.2. <i>Lactobacillus</i> .....	30
1.3.3. <i>Enterococcus</i> .....	31
1.3.4. <i>Streptococcus</i> .....	32
1.3.5. <i>Leuconostoc</i> .....	33
1.3.6. <i>Pediococcus</i> .....	33
1.4. Функционални и метаболички својства на млечнокиселите бактерии .....	34
1.4.1. Протеолитичка активност .....	34
1.4.2. Липолитичка активност.....	38
1.4.3. Продукција на егзополисахариди.....	39
1.4.4. Производство на биогени амини .....	43
1.4.5. Антимикробна активност .....	46
1.5. Број и разновидност на млечнокисели бактерии во козјо млеко и во традиционално козјо сирење.....	48
1.5.1. Разновидност на млечнокисели бактерии во сурово козјо млеко .....	49
1.5.2. Разновидност на млечнокисели бактерии во традиционално козјо сирење ..	51
2. ПРЕДМЕТ И ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО.....	54
2.1. Цели на истражувањето.....	54
2.2. Хипотези на истражувањето .....	54
3. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ .....	56
3.1. Материјали.....	56
3.2. Методи .....	57
4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА.....	67
4.1. Физичко-хемиски анализи .....	67
4.2. Морфо-текстурална анализа .....	72
4.3. Анализа на испарливи соединенија.....	78
4.4. Микробиолошка анализа.....	82
4.4.1. Број на живи микроорганизми.....	82
4.4.2. Метатаксономска анализа .....	89

4.4.3. Идентификација и карактеризација на млечнокисели бактерии.....	99
4.5. Сензорна анализа на традиционалното козјо сирење.....	113
4.6. Ставови на потрошувачите кон козјото млеко и производите од козјо млеко ...	115
5. ЗАКЛУЧОЦИ .....	125
КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА.....	129
ПРИЛОЗИ .....	164

## СКРАТЕНИЦИ

LAB	Lactic acid bacteria – млечнокисели бактерии
G+	Gram positive – Грам-позитивни
BAs	Biogenic amines – биогени амини
SLAB	Starter lactic acid bacteria – млечнокисели стартер-бактерии
NSLAB	Non-starter lactic acid bacteria – млечнокисели бактерии кои не се стартни култури
TS	Total solids – вкупни суви материи
CLA	Conjugated linoleic acid – конјугирана линолеинска киселина
SCFA	Short-chain fatty acids – масни киселини со краток ланец
MCFA	Medium-chain fatty acids – масни киселини со среден ланец
SFA	Saturated fatty acids – заситени масни киселини
MUFA	Monounsaturated fatty acids – мононезаситени масни киселини
PUFA	Polyunsaturated fatty acids – полинезаситени масни киселини
NaCl	Натриум хлорид
<i>L.</i>	<i>Lactococcus</i>
<i>Lb.</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>E.</i>	<i>Enterococcus</i>
<i>Staph.</i>	<i>Staphylococcus</i>
<i>P.</i>	<i>Pediococcus</i>
GRAS	Generally Recognized as Safe – општо признати како безбедни
EFSA	The European Food Safety Authority – Европската агенција за безбедност на храна
FAO	Food and Agriculture Organization – Организација за храна и земјоделство
QPS	Qualified Presumption of Safety – Квалификувана претпоставка за безбедност
WHO	World Health Organization – Светска здравствена организација
GABA	Gamma-Aminobutyric Acid – гама-аминобутирна киселина
EMP	Embden-Meyerhof-Parnas pathway – патека Емден-Мајерхоф-Парнас
CEP	Cell envelope proteinase – протеиназа на клеточната обвивка
FFAs	Free Fatty Acids – слободни масни киселини
EPS	Exopolysaccharides – ектополисахариди
MRS	De Man-Rogosa-Sharpe agar – Агар Де Ман-Рогоса-Шарп
HoPS	Homopolysaccharides – хомополисахариди
HePS	Heteropolysaccharides – хетерополисахариди
<i>hdcA</i>	Histidine decarboxylase gene – ген за хистидин декарбоксилаза
qPCR	Quantitative polymerase chain reaction – квантитативна полимеразна верижна реакција
PTFE	Polytetrafluoroethylene – политетрафлуороетилен
VOCs	Volatile organic compounds – испарливи органски соединенија

NIST	NIST Quantitative Infrared Database – квантитативна инфрацрвена база на податоци на NIST
BHI	Brain Heart Infusion agar – агар инфузија од мозок и од срце
ASVs	Amplicon sequence variants – варијанти на ампликон секвенции
BLASTn	Basic Local Alignment Search Tool for nucleotides – алатка за локална споредба на нуклеотидни секвенции
NCBI	National Center for Biotechnology Information – Национален центар за биотехнолошки информации
SRA	Sequence Read Archive – архива за читање секвенција
PCoA	Principal Coordinate Analysis – анализа на главни координати
(± SD)	Standard deviation – стандардна девијација
TPA	Texture Profile Analysis – анализа на текстурен профил
TTA	Total Titratable Acidity – вкупна титрациона киселост
cfu	Colony forming units – единици на формирање колонии
rRNA	Ribosomal ribonucleic acid – рибозомска рибонуклеинска киселина
ДНК	Дезоксирибонуклеинска киселина

## СПИСОК НА ТАБЕЛИ

Табела 1: Состав на козјо млеко и на кравјо млеко .....	20
Табела 2: Концентрација на протеини во козјо и во кравјо млеко (Yadav et al., 2016)...	21
Табела 3: Аминокиселински профил на козјо и на кравјо млеко.....	22
Табела 4: Состав на масни киселини (mg/100 g млеко) во мастите од козјо и од кравјо млеко (Park et al., 2007).....	23
Табела 5: Концентрацијата на минерали во козјо и во кравјо млеко.....	25
Табела 6: Содржина на витамини во козјо и во кравјо млеко (Park et al., 2007) .....	26
Табела 7: Млечнокисели бактерии кои произведуваат протеолитички ензими (Ter et al., 2024) .....	34
Табела 8: Видови LAB, бифидобактерии и пропионибактерии присутни во храната кои произведуваат хомополисахариди (HoPS) и хетерополисахариди (HePS) (Ruas-Madiedo et al., 2010) .....	40
Табела 9: Ефекти на екзополисахаридите произведени од млечнокисели бактерии врз својствата на сирењето .....	42
Табела 10: Токсични ефекти од биогените амини кај луѓето (EFSA, 2011; Özogul & Özogul, 2019) .....	44
Табела 11: Број на млечнокисели бактерии во сурово козјо млеко и сирење.....	49
Табела 12: Разновидност на млечнокисели бактерии во сурово козјо млеко .....	50
Табела 13: Разновидност на млечнокисели бактерии во козјо сирење.....	52
Табела 14: Методологија на сензорна евалуација .....	64
Табела 15: Физичко-хемиски параметри на примероци од млеко и од сирење земени во различни периоди на зреење (t0, t30 дена, t60 дена) произведени во пролет .....	68
Табела 16: Физичко-хемиски параметри на примероци од млеко и од сирење земени во различни периоди на зреење (t0, t30 дена, t60 дена) произведени во есен .....	69
Табела 17: Параметри на боја на бело саламурено козјо сирење произведено во пролет во различни фази на зреење (t0, t30 и t60 дена) .....	73
Табела 18: Параметри на боја на бело саламурено козјо сирење произведено во есен во различни фази на зреење (t0, t30 и t60 дена) .....	74
Табела 19: Параметри на текстурата на примероци од сирење произведено во пролет земени во различни фази на зреење (t0, t30 и t60 дена) .....	75
Табела 20: Параметри на текстурата на примероци од сирење произведено во есен земени во различни фази на зреење (t0, t30 и t60 дена) .....	76
Табела 21: Релативен процент на вкупни испарливи органски соединенија откриени во пролетно и во есенско сурово козјо сирење.....	78
Табела 22: Број на живи микроорганизми во примероци од млеко и од сирење произведени во пролет, земени во различни периоди на зреење (t0, t30 и t60 дена) .....	83
Табела 23: Број на живи микроорганизми во примероци од млеко и сирење произведени во есен земени во различни периоди на зреење (t0, t30 и t60 дена).....	84
Табела 24: Идентификација и карактеризација на млечнокисели бактерии изолирани од алатки и од производната средина .....	101

Табела 25: Идентификација и карактеризација на млечнокисели бактерии изолирани од млеко, сирење и од саламура .....	104
Табела 26: Средни сензорски оценки ( $\pm$ SD) на бело саламурено козјо сирење и <i>p</i> -вредности за ефектите на сезоната, серијата и на интеракцијата сезона $\times$ серија .....	113
Табела 27: Социодемографски профил на анкетираната популација ( $n = 400$ ) .....	116
Табела 28: Консумација на козјо млеко и на козји млечни производи според пол, возраст и регион на живеење ( $n$ , %, $\chi^2$ ) .....	118
Табела 29: Причини за неконсумација на козјо млеко и на козји млечни производи според пол (%, $\chi^2$ ) .....	121
Табела 30: Причини за неконсумација на козјо млеко и на козји млечни производи според возраст (%, $\chi^2$ ) .....	121
Табела 31: Преференција за тип на млеко за сирење според пол и според возраст ( $n$ , %, $\chi^2$ ) .....	123

## СПИСОК НА СЛИКИ

Слика бр. 1: Шематски приказ на производство на бело саламурено сирење (приспособено од Mateva et al., 2019) .....	27
Слика бр. 2: Главни здравствени придобивки кај луѓето поврзани со егзополисахаридите произведени од млечнокисели бактерии (приспособено од Hernández-Figueroa et al., 2025) .....	43
Слика бр. 3: Стадо кози во фармата каде што е произведено сирењето ( <i>извор</i> : архива на авторот) .....	56
Слика бр. 4: Шематски приказ на процесот на производство на сирење.....	57
Слика бр. 5: Изглед на произведеното бело саламурено козјо сирење ( <i>извор</i> : архива на авторот).....	57
Слика бр. 6: а) Подготовка на примерок сирење за анализа, б) Разредување на примероци ( <i>извор</i> : архива на авторот).....	60
Слика бр. 7: Раст на колони од различни бактерии ( <i>извор</i> : архива на авторот) .....	61
Слика бр. 8: а) Изолација на LAB, б) Подготовка на екстрактите на ДНК за амплификација во PCR ( <i>извор</i> : архива на авторот) .....	61
Слика бр. 9: а) Уред за изведување агарозна гел електрофореза, б) Резултати од агарозна гел електрофореза под UV светлина ( <i>извор</i> : архива на авторот) .....	62
Слика бр. 10: Топлинска мапа на профилот на испарливи органски соединенија (VOCs) во пролетни и во есенски сирења (П – пролет, Е – есен) во фази на зреење (t0, t30, t60) .....	81
Слика бр. 11: Резултати од анализата PLS-DA на профилите на испарливи органски соединенија кај сирењата во фази на зреење (t0, t30, t60) .....	82
Слика бр. 12: Состав на бактериската микробиота во примероци од млеко (М) и од сирење од различни сезони (П – пролет, Е – есен), серии на производство (серија 1 и 2) и фази на зреење (t0, t30, t60), претставен како релативна фреквенција на ASVs .....	91
Слика бр. 13: Алфа-диверзитет на микробната заедница (Chao1, Shannon и Simpson) кај пролетни и кај есенски примероци (Wilcoxon тест, сезона П – пролет, Е – есен) .....	93
Слика бр. 14: Бета-диверзитет на микробната заедница проценет со Брау-Кертис (Bray-Curtis) и визуализиран со PCoA (сезона П – пролет, Е – есен) .....	94
Слика бр. 15: Релативна фреквенција на бактериски таксони во сирењата произведени во пролет (П, серија 1 и 2) и во есен (Е, серија 1 и 2) .....	96
Слика бр. 16: Релативна фреквенција на бактериски таксони во сирењата произведени во пролет (П, серија 1 и 2) и во есен (Е, серија 1 и 2) .....	97
Слика бр. 17: Резултати од сензорната евалуација на сирењата: графичка споредба помеѓу пролет и есен (% од максималната вредност).....	114
Слика бр. 18: Процентуална распределба на испитаниците во одговор на следново прашање: „Дали конзумирате/користите козјо млеко и производи од козјо млеко?“ ..	117
Слика бр. 19: Процентуална распределба на испитаниците во одговор на следново прашање: „Кои видови козји млечни производи ги конзумирате/користите?“ .....	119
Слика бр. 20: Фреквенција на консумација на козјо млеко и на козји млечни производи според пол, возраст и според живеалиште (%).....	119

Слика бр. 21: Процентуална распределба на испитаниците во одговор на следново прашање: „Кој од следниве концепти го поврзувате со козји млечни производи?“ ..... 122

Слика бр. 22: Процентуална распределба на испитаниците во одговор на следново прашање: „Зошто сметате дека козјите млечни производи се здрави?“ ..... 123

## АПСТРАКТ

Оваа дисертација претставува интегрирана карактеризација на традиционално македонско бело саламурено сирење од сурово козјо млеко, со посебен фокус на влијанието на сезонското производство (пролет наспроти есен) врз неговите физичко-хемиски својства, текстурални карактеристики, микробна екологија и сензорни карактеристики. Есенските сирења се одликуваа со пониска рН, повисока титрациона киселост, пониска активност на вода и поголема содржина на NaCl во споредба со пролетните серии, што укажува на изразена сезонска варијабилност поврзана со занаетчиската/фармерска, нестандартизирана обработка.

Сензорската анализа на белото саламурено козјо сирење откри дека сезоната има доминантно влијание врз квалитетот на сирењето. Вкупната сензорска оценка беше значително повисока кај пролетното сирење (102,36, 97,48 % од максималната вредност) наспроти есенското (91,03, 86,69 %).

Комбинираниот културно-зависен и метатаксономски пристап базиран на 16S rRNA ген откри јасно сезонска структурирана микробиота. Детектирани беа одржливи популации на мезофилни аероби (до 6,51 log cfu g<sup>-1</sup>), претпоставени мезофилни лактобацили (до 6,51 log cfu g<sup>-1</sup>) и лактококи (до 7,18 log cfu g<sup>-1</sup>), коагулаза-негативни и коагулаза-позитивни стафилококи (до 6,97 и <1,76 log cfu g<sup>-1</sup>, соодветно), како и Enterobacteriaceae (до 1,25 log cfu g<sup>-1</sup>) на 60 дена од зреењето. Пролетните сирења се карактеризираа со повисока релативна застапеност на Carnobacteriaceae, *Enterococcus*, *Serratia* и *Tetragenococcus halophilus*, додека во есенските серии доминираа *Companilactobacillus* и *Lactococcus*, заедно со различни претставници на Enterobacteriaceae. Анализата на бета-диверзитет потврди значајно групирање на микробните заедници според сезоната.

Вкупно 134 изолати на млечнокисели бактерии беа добиени од производната средина, млекото, саламурата и од сирењето. Идентификувани беа *Lactococcus lactis*, *Levilactobacillus brevis*, повеќе видови на *Enterococcus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Marinilactibacillus psychrotolerans* и *Companilactobacillus alimentarius*. Голем број изолати покажаа изразена протеолитичка активност, дел од нив продуцираа егзополисахариди, а одредени изолати поседуваа липолитички капацитет, што укажува на значаен технолошки потенцијал. Скринингот за генот *hdcA* покажа дека само изолатот на *C. alimentarius* е позитивен, со што се исклучува од понатамошна примена, додека другите изолати беа *hdcA*-негативни и претставуваат безбедни кандидати за селекција.

Севкупно, резултатите ја нагласуваат изразената сезонска реконфигурација на микробиотата и ја истакнуваат централната улога на автохтоните млечнокисели бактерии во обликувањето на квалитетот, безбедноста и во типичноста на ова традиционално козјо сирење, отворајќи можности за нивна идна валоризација.

**Клучни зборови:** козјо млеко, бело саламурено сирење, млечнокисели бактерии, карактеризација на млечнокисели бактерии

## ABSTRACT

This thesis presents an integrated characterization of a traditional Macedonian white brine cheese from raw goat's milk, with a special focus on the influence of seasonal production (spring vs. autumn) on its physico-chemical properties, textural characteristics, microbial ecology and sensory characteristics. Autumn cheeses were characterized by lower pH, higher titratable acidity, lower water activity and higher NaCl content compared to the spring batches, indicating marked seasonal variability associated with artisanal, non-standardized processing.

Sensory analysis of white brine goat cheese revealed that season has a dominant effect on cheese quality. The total sensory score was significantly higher in the spring cheese (102.36, 97.48% of the maximum value) compared to the autumn cheese (91.03, 86.69% of the maximum value).

A combined culture-dependent and metataxonomic approach based on the 16S rRNA gene revealed a distinctly seasonally structured microbiota. Viable populations of mesophilic aerobes (up to 6.51 log cfu g<sup>-1</sup>), presumed mesophilic lactobacilli (up to 6.51 log cfu g<sup>-1</sup>) and lactococci (up to 7.18 log cfu g<sup>-1</sup>), coagulase-negative and coagulase-positive staphylococci (up to 6.97 and <1.76 log cfu g<sup>-1</sup>, respectively), as well as Enterobacteriaceae were detected. (up to 1.25 log cfu g<sup>-1</sup>) at 60 days from ripening. The spring cheeses were characterized by a higher relative representation of Carnobacteriaceae, *Enterococcus*, *Serratia* and *Tetragenococcus halophilus*, while the autumn series were dominated by *Companilactobacillus* and *Lactococcus*, together with various representatives of Enterobacteriaceae. Beta-diversity analysis confirmed significant clustering of microbial communities by season.

A total of 134 isolates of lactic acid bacteria were obtained from the dairy environment, milk, brine and cheese. *Lactococcus lactis*, *Levilactobacillus brevis*, several species of *Enterococcus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Marinilactibacillus psychrotolerans* and *Companilactobacillus alimentarius* were identified. A large number of isolates showed pronounced proteolytic activity, some of them produced exopolysaccharides, and certain isolates possessed lipolytic capacity, which indicates a significant technological potential. Screening for the *hdcA* gene showed that only the *C. alimentarius* isolate was positive, thus excluding it from further use, while the rest of the isolates were *hdcA*-negative and represent safe candidates for selection.

Overall, the results highlight the marked seasonal reconfiguration of the microbiota and highlight the central role of autochthonous lactic acid bacteria in shaping the quality, safety and typicality of this traditional goat cheese, opening possibilities for their future valorization.

**Keywords:** goat milk, white brined cheese, lactic acid bacteria, characterization of lactic acid bacteria

## ВОВЕД

Во земјите од Јужна Европа, производството на занаетчиски регионални сирења претставува важно гастрономско наследство (Montel et al., 2014). Благодарение на специфичната географска положба, климата и на богатите ливади и пасишта, Балканскиот Полуостров отсекогаш бил погоден за развој на сточарството, вклучувајќи го и одгледувањето крави, овци и кози. Голем дел од регионот е планински и исполнет со мали села, каде што во руралните домаќинства традиционално се прават различни млечни производи. Особено значајни се сирењата од сурово млеко, произведени со примена на традиционални техники и без додадени starter-култури (Terzić-Vidojević et al., 2020).

Од друга страна, добро е документирано дека поради високата нутритивна вредност и поради содржината на протеини со висока биолошка вредност, есенцијални масни киселини, витамини и на минерали, млечните производи се една од најважните групи храна во човечката исхрана (Lima et al., 2018). Козјото млеко привлекува особено внимание поради неговите хранливи својства и присуството на биоактивни компоненти, кои го прават корисна намирница за добробалансирана исхрана и за одржување на здравјето (Hammam et al., 2022). Поради овие својства, козјото млеко се користи за производство на различни млечни производи, вклучително и за традиционални сирења, кои се препознатлив дел од културното и од гастрономското наследство во Република Северна Македонија (Mojsova et al., 2013; Mateva et al., 2019).

Традиционалното бело саламурено сирење се произведува претежно во мали фарми или во фарми лоцирани во планински и рурални средини, каде што се користи сурово, нетретирано млеко без додавање starter-култури. Овој тип сирење зрее во саламура (10-18 % NaCl) и се одликува со малку кисел и солен вкус (Hayaloglu, 2017). Бактериската разновидност што потекнува од нетретираното млеко и од околината е главниот извор на микроорганизми кои му даваат на традиционалното бело саламурено сирење препознатлив вкус, арома, текстура и изглед. Микробиолошките заедници во сирењето се богато застапени и разновидни, а нивниот состав и бројноста се менуваат низ целиот процес на зреење на сирењето (Garabal, 2007). Млечнокиселите бактерии (LAB) имаат клучна улога во процесите на ферментација и на зреење на сирењата. Тие се Грам-позитивни, катализа негативни, неспороформирачки микроорганизми што произведуваат млечна киселина како главен продукт на ферментацијата (Axelsson, 2004; Hirre et al., 2011). LAB се доминантна група микроорганизми во сирењата, природно присутни во млекото или додадени како starter-култури (Steele et al., 2013). Во традиционалното козјо сирење, за чие производство се користи сурово млеко, автохтоната микрофлора предводена од LAB игра суштинска улога во развојот на вкусот, аромата и на текстурата на производот (Montel et al., 2014).

Во последниве години, научниот интерес е насочен кон карактеризација на автохтоните млечнокисели бактерии изолирани од сурово козјо млеко и од традиционални козји сирења за подобро разбирање на нивниот технолошки, пробиотски и безбедносен потенцијал (Perin et al., 2017; Mladenović et al., 2022; Silva et al., 2023a; Silva et al., 2023b). Карактеризацијата опфаќа морфолошки, биохемиски, ензимски и

молекуларни анализи за идентификација на изолатите и за оценка на нивните својства за можна примена како стартер или помошни култури (Hatti-Kaul et al., 2018).

Протеолитичката активност е еден од клучните технолошки аспекти на млечнокиселите бактерии бидејќи овозможува разградба на казеинот и обезбедување есенцијални аминокиселини неопходни за нивниот раст во млекото (Kieliszek et al., 2021). Протеолитичкиот систем на LAB опфаќа три меѓусебно поврзани компоненти: хидролиза на казеинот, транспорт на пептиди и понатамошна разградба на пептидите до слободни аминокиселини (Juillard et al., 2022). Во производството на полутврди и на тврди сирења, протеолизата претставува централен биохемиски процес кој ја одредува текстурата и придонесува за развојот на карактеристичниот вкус (Ianni et al., 2020). Дополнително, протеолитичката деградација на млечните протеини ја подобрува сварливоста на производот, ја намалува антигеноста на протеините од сурутка и резултира со формирање биоактивни пептиди со антимикуробни својства (García-Cano et al., 2019).

Покрај протеолитичката, значајна улога има и липолитичката активност на LAB. Липазите се ензими кои катализираат хидролиза на триглицериди до глицерол и слободни масни киселини (Annarpure & Pratisha, 2022; Ali et al., 2023), кои се суштински за развој на карактеристичниот вкус и на карактеристичната арома на сирењата (Thierry et al., 2017).

Млечнокиселите бактерии се способни да произведуваат метаболити наречени егзополисахариди (EPS) за време на ферментацијата. EPS долго време се ценети во ферментираниите млечни производи поради нивните својства на желатинирање и на згуснување, но тие нудат и здравствени придобивки, кои привлекоа интерес за развој на функционална храна бидејќи EPS може да покажат пребиотски, имуномодулаторни, антиоксидантни, антитуморски ефекти, како и ефекти против намалување на холестеролот и против дебелина (Sørensen et al., 2022). LAB имаат и биопротективна и антимикуробна улога преку продукција на бактериоцини – мали пептиди со антимикуробна активност, кои делуваат против патогени и расипувачки микроорганизми (Cotter et al., 2005; Castellano et al., 2008).

Безбедноста на млечнокиселите бактерии е од особено значење, особено поради нивната способност да произведуваат биогени амини (BAs), биолошки активни соединенија што се создаваат преку микробна декарбоксилација на аминокиселини (Banicod et al., 2025). Најчести претставници се хистамин, тирамин, путресцин и кадаверин, кои во високи концентрации можат да предизвикаат здравствени проблеми (EFSA, 2011; Alvarez & Moreno-Arribas, 2014). Гените *hdc*, *tdc*, *odc* и *ldc* се поврзани со синтезата на овие амини (Linares et al., 2011; Barbieri et al., 2019), поради што нивното отсуство/присуство е клучно за идентификување на изолати на LAB без потенцијал за продукција на BAs при селекцијата на безбедни стартер-култури (Torrioni et al., 2011; Osimani et al., 2023).

Покрај микробиолошките и биохемиските фактори, сензорните својства на сирењето, како вкус, арома, текстура и изглед, се од суштинско значење за неговиот квалитет и за прифатливоста кај потрошувачите (Poveda & Cabezas, 2006). Вкусот и аромата се развиваат преку биохемиски реакции за време на зреењето, особено протеолиза и липолиза, при што се создаваат различни ароматични соединенија

(Gámbaro et al., 2017). Квалитетот и сензорните својства зависат од составот на млекото, видот на животното, условите на производство, технологијата на преработка и од влијанието на сезонските фактори и на средината (Coulon et al., 2004; Fekadu et al., 2005; Bjørgan et al., 2025). Конечно, перцепцијата на потрошувачите има суштинска улога во идниот развој на козјите млечни производи. Истражувањата покажуваат дека здравствените и нутритивните придобивки се главни мотиватори за консумација, додека цената, достапноста и сензорните карактеристики претставуваат најголеми бариери (Zine-eddine et al., 2021; Vargas-Bello-Pérez et al., 2022; Hedef et al., 2024).

Сметано од аспект на микробиолошката основа на овие својства, досега постојат малку податоци за автохтоната микрофлора и за разновидноста на млечнокиселите бактерии во козјото млеко и сирење. За подобро разбирање на нивниот придонес за квалитетот и за безбедноста на сирењето, се изолирани и карактеризирани микроорганизми од сурово козјо млеко, традиционално произведеното козјо сирење, примероци од производствената околина и од алатките, земени во две сезони и во две производствени серии. Истражувањето е значајно за оптимизација на ферментацијата, подобрување на сензорните својства и за усовршување на производните практики, а податоците за микробната разновидност се важни и за зачувување на традиционалните производствени методи, локалното културно наследство, разликување на продуктите на пазарот и за промоција на регионалната специфичност.

## 1. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА

### 1.1. Состав на козјо млеко

Козјото млеко се користи широко во производството на различни млечни производи затоа што е лесносварливо, хипоалергично и богато со хранливи материи (Hamam et al., 2022). Козјото млеко има сличен макронутритивен состав со кравјото млеко, но, сепак, забележливите разлики во протеинските фракции, составот на мастите и содржината на минерали може да влијаат врз неговата сварливост и врз биорасположливоста на одредени хранливи материи (El-Hatmi et al., 2015).

Составот на козјото млеко значително може да варира под влијание на генетските, физиолошките, еколошките и на технолошките фактори (Mayer & Fiechter, 2012). Дополнително, меѓу поединечни животни од иста раса се забележува изразена варијабилност во составот, што се должи на широкиот и комплексен генетски полиморфизам на казеините присутни во козјото млеко (Amigo & Fontecha, 2011). Иако козјото млеко има содржина на вкупни цврсти материи (TS), масти, протеини, лактоза и пепел слична на онаа кај кравјото млеко, постојат значајни разлики во поединечните компоненти меѓу овие два вида млеко (Park et al., 2007). Дополнително, потрошувачката на млеко, вклучувајќи го и козјото, е поврзана со низа корисни здравствени ефекти благодарение на присуството на соединенија со биолошка активност. Меѓу нив се вбројуваат биоактивни пептиди и липиди, како конјугираните линолеински киселини, но и други биоактивни компоненти, вклучувајќи хормони, цитокини, олигосахариди, нуклеотиди и различни микрокомпоненти. Овие соединенија можат да играат значајна улога во развојот и во одржувањето на метаболичките, имунолошките и на физиолошките процеси, со што придонесуваат за создавање функционални млечни производи (Mukdsi et al., 2013; de Assis et al., 2016).

Основниот состав на козјото млеко наликува на оној на кравјото млеко и е претставен во табелата 1.

Табела 1: Состав на козјо млеко и на кравјо млеко

Параметар	Ceballos et al. (2009) Козјо млеко	Park (2010) Козјо млеко	Yadav et al. (2016) Козјо млеко	Yadav et al. (2016) Кравјо млеко
Енергија (kcal)	/	70	70	69
Вода (%)	/	/	87,5	87,7
Вкупни цврсти материи (g)	13,57	12,2	12,2	12,3
Протеини (%)	3,48	3,5	3,2	3,2
Масти (%)	5,23	3,8	4,0-4,5	3,6
Лактоза (%)	4,11	4,1	4,6	4,7
Пепел (g)	0,75	0,8	0,8	0,7

Козјото и кравјото млеко содржат значително поголеми количини протеини и минерали, но помала содржина на лактоза во споредба со човечкото млеко (El-Hatmi et

al., 2015). Сепак, козјото млеко се одликува со повисоки концентрации на масни глобули, кои истовремено се помали од оние присутни во кравјото млеко; нивните просечни дијаметри изнесуваат приближно 3,6 и 3,0  $\mu\text{m}$  наспроти 4,0  $\mu\text{m}$  во кравјото млеко (Gantner et al., 2015). Помалите димензии на масните глобули придонесуваат за помазна текстура на производите добиени од козјо млеко.

Козјото млеко содржи помали количини  $\alpha\text{S1}$ -казеин, што резултира со поголем капацитет за задржување вода и со понизок вискозитет (Gomes et al., 2013), како и со хипоалергени својства (ALKaisy et al., 2023). И покрај овие придобивки, вкусот на козјото млеко е поинтензивен и специфичен во споредба со кравјото млеко, што може да влијае врз прифатливоста на млекото и на неговите производи од потрошувачите (Gomes et al., 2013). Сепак, козјото млеко полесно е сварливо од кравјото млеко поради отсуството на аглутинини (Park et al., 2007), кои предизвикуваат масните глобули да се обединат кога млекото се лади (Jenness, 1980).

### 1.1.1. Протеини

Протеините се една од најзначајните групи макронутриенти во козјото млеко и претставуваат важен показател при процена на неговиот нутритивен квалитет (García et al., 2014). Содржината на протеини во млекото зависи од расата, видот, фазата на лактација, здравјето на вимето, исхраната и од условите на околината (Park et al., 2007). Во козјото млеко вкупната содржина на протеини варира од 2,6 до 4,1 g/l.

Казеините и протеини од сурутка се составен дел на протеините на млекото. Казеините ( $\alpha\text{S1}$ -,  $\beta$ -,  $\alpha\text{S2}$ - и  $\kappa$ -) сочинуваат 80 % од млечните протеини, додека протеините од сурутка, вклучувајќи серумски албумин,  $\alpha$ -лакталбумин,  $\beta$ -лактоглобулин, имуноглобулини, протеозни, пептони и лактоферин сочинуваат околу 20 %. Казеинот е меѓу најраспространетите протеини во млекото и игра важна улога во производството на функционални млечни производи (Sun et al., 2020).

Во табелата 2 е претставена концентрацијата на протеини во козјо и во кравјо млеко адаптирана според Јадав и соработниците (Yadav et al., 2016).

Табела 2: Концентрација на протеини во козјо и во кравјо млеко (Yadav et al., 2016)

Протеин	Концентрација (%)	
	Козјо млеко	Кравјо млеко
Вкупен казеин	2,33-4,63	2,4-2,8
$\alpha\text{S1}$ -казеин	0-28,0	50,0-53,6
$\alpha\text{S2}$ -казеин	10,0-25,0	12,5-14,3
$\beta$ -казеин	06-64,0	37,5-39,3
$\kappa$ -казеин	15,0-29,0	8,3-14,3
Протеини од сурутка	0,37-0,70	0,5-0,7
$\beta$ -лактоглобулин	39,2-72,1	40,0-57,1
$\alpha$ -лакталбумин	17,8-33,3	12,0-24,3
Серумски албумин/ лактоферин	5,1-21,5	4,0-5,71
Имуноглобулини	4,6-21,4	10,0-25,7

Содржината на казеин може да варира во текот на лактацијата (Mal et al., 2018). Главните форми на казеино-макропептиди во млеко од кози и од овци се растворливите C-терминални деривати, формирани при дејството на химозинот врз к-казеинот за време на процесот на згрутчување на млекото при правење сирење. Овие деривати се одлични извори на антитромботични пептиди (Atanasova & Ivanova, 2010).

### 1.1.1.1. Аминокиселини

Хранливата вредност на млечните протеини зависи од содржината на есенцијални аминокиселини во нивниот состав. Меѓу различните видови млеко, разликите во нивото на аминокиселини на 100 g протеин се минимални и најверојатно се резултат на варијациите во вкупната концентрација на протеини (Claeys et al., 2014).

Аминокиселините се основни градбени блокови на ткивните протеини и есенцијални супстрати за синтеза на многу супстанции со мала молекуларна тежина, како: полиамини, глутатион, креатин, карнитин, карнозин, тироидни хормони, серотонин, меланин, мелатонин и хем, кои имаат значајна физиолошка улога (Blachier et al., 2011).

Табела 3: Аминокиселински профил на козјо и на кравјо млеко

	<b>Landi et al. (2021) g/100 g козјо млеко</b>	<b>Ceballos et al. (2009) g/100 g козјо млеко</b>	<b>Ceballos et al. (2009) g/100 g кравјо млеко</b>
<b>Треонин*</b>	0,29	0,14	0,11
<b>Изолеуцин*</b>	0,21	0,16	0,13
<b>Леуцин*</b>	0,43	0,34	0,27
<b>Лизин*</b>	0,37	0,34	0,25
<b>Метионин*</b>	0,14	0,08	0,07
<b>Цистеин</b>	0,05	0,03	0,02
<b>Фенилаланин*</b>	0,25	0,17	0,13
<b>Тирозин</b>	0,20	0,16	0,16
<b>Валин*</b>	0,27	0,21	0,15
<b>Аргинин</b>	0,14	0,13	0,11
<b>Хистидин*</b>	0,12	0,12	0,09
<b>Аспарагинска киселина</b>	0,34	0,25	0,21
<b>Аланин</b>	0,15	0,12	0,10
<b>Глутаминска киселина</b>	1,03	0,69	0,55
<b>Глицин</b>	0,08	0,05	0,05
<b>Пролин</b>	0,47	0,31	0,25
<b>Серин</b>	0,27	0,15	0,15

\*Есенцијални аминокиселини

Аминокиселините се поделени во две групи:

1. Есенцијални аминокиселини – аминокиселини кои не можат да се синтетизираат од организмот и затоа мора да се внесуваат преку исхраната. Претставници се: хистидин, изолеуцин, леуцин, лизин, метионин, фенилаланин, треонин, триптофан и валин.
2. Неесенцијални аминокиселини – аминокиселини кои можат да се синтетизираат од организмот. Тука спаѓаат: аланин, аргинин, аспарагин, аспарагинска киселина, цистеин, глутаминска киселина, глутамин, глицин, пролин, серин и тирозин.

Козјото млеко има повисоки нивоа на есенцијалните аминокиселини: треонин, леуцин, лизин, фенилаланин, валин и неесенцијалните: пролин, цистеин, тирозин, како и глутаминска киселина во споредба со кравјото млеко (табела 3). Козјото млеко се одликува со поволен аминокиселински состав, особено во однос на егзогените (есенцијалните) аминокиселини, чии количини можат да ги задоволат или да ги надминат дневните потреби на организмот, во согласност со проценетите потреби од WHO/FAO/UNU (2007): лизин 30 mg/kg, леуцин 39 mg/kg, валин 26 mg/kg, изолеуцин 20 mg/kg, треонин 15 mg/kg, фенилаланин 25 mg/kg, триптофан 4 mg/kg, метионин 10,4 mg/kg, цистеин 4,1 mg/kg и хистидин 10 mg/kg телесна маса на ден.

Аминокиселините не се само градбени блокови на протеините, туку и клучни регулатори на метаболизмот, имунитетот, хормоналната рамнотежа, нервната функција, варењето, репродукцијата и на обновата на ткивата, имајќи суштинска улога во одржувањето на здравјето и во рамнотежата на организмот (Wu, 2013).

### 1.1.2. Мласти

Липидите се едни од најважните компоненти на млекото, бидејќи влијаат врз хранливата вредност, врз физичките и сензорните карактеристики на млечните производи. Тие се присутни во форма на глобули, кои кај козјото млеко обично се мали, со дијаметар помал од 3,5  $\mu\text{m}$ . Оваа карактеристика ја олеснува сварливоста и ја подобрува ефикасноста на липидниот метаболизам во споредба со мастите од кравјо млеко. Мастите во кравјо, овчо, козјо и во човечко млеко се составени од 97-98 % триглицериди, додека содржината на фосфолипиди (0,5-1,5 %) и на слободни масни киселини (0,7-1,5 %) во нивниот состав релативно е ниска (Park et al., 2007).

Табела 4: Состав на масни киселини (mg/100 g млеко) во мастите од козјо и од кравјо млеко (Park et al., 2007)

Липиден профил	Козјо млеко	Кравјо млеко
C4:0	66,55	116,44
C6:0	171,68	77,86
C8:0	192,20	57,80
C10:0	579,10	114,91
C11:0	7,46	7,29
C12:0	232,61	130,87
C14:0	518,56	384,41
C14:1	7,19	16,87
C15:0	28,11	35,23

<b>C15:1</b>	3,01	2,74
<b>C16:0</b>	1340,97	1102,72
<b>C16:1</b>	51,58	52,32
<b>C16:2 n-4</b>	1,57	0,57
<b>C17:0</b>	18,44	6,27
<b>C17:1</b>	4,32	2,85
<b>C18:0</b>	493,56	378,25
<b>C18:1 n-9, trans</b>	19,22	55,75
<b>C18:1 n-9, cis</b>	1245,92	742,71
<b>C18:2 n-6</b>	142,39	82,31
<b>CLA n-7, цис-9, транс-11</b>	18,70	13,79
<b>CLA n-6, транс-10, цис-12</b>	3,53	1,82
<b>CLA n-7, цис-9, цис-11</b>	1,05	-
<b>CLA n-5, цис-11, транс-13</b>	12,42	-
<b>CLA total</b>	33,75	15,62
<b>C18:3 n-3</b>	27,72	8,55
<b>C20:0</b>	2,49	3,57
<b>C20:1 n-9</b>	1,57	1,03
<b>C20:2 n-6</b>	5,49	1,48
<b>C20:3 n-6</b>	-	0,80
<b>C21:0</b>	1,44	0,23
<b>C22:0</b>	4,05	3,99
<b>C23:0</b>	0,26	0,91
<b>C24:0</b>	0,66	0,68
<b>C24:1 n-9</b>	0,92	-
<b>C6-14</b>	1695,70	790,02
<b>SFA</b>	3683,10	2436,41
<b>MUFA</b>	1342,67	874,27
<b>PUFA</b>	213,25	109,32
<b>PUFA n-6</b>	146,97	86,41
<b>PUFA n-3</b>	26,81	8,55
<b>PUFA n-6/n-3</b>	5,49	10,49

SFA: заситени масни киселини; MUFA: мононезаситени масни киселини; PUFA: полинезаситени масни киселини; CLA: конјугирана линолеинска киселина.

Главната карактеристика на мастите од козјо млеко е високата содржина на масни киселини со краток и со среден ланец (SCFA, MCFA). Профилот на масни киселини покажува повисоки концентрации на бутирова (C4:0), капроична (C6:0), каприлна (C8:0), капринска (C10:0), лауринска (C12:0), миристинска (C14:0), палмитинска (C16:0) и на линолеинска киселина (C18:2) во споредба со кравјото млеко. Наспроти тоа, козјото млеко содржи пониски нивоа на стеаринска (C18:0) и на олеинска (C18:1) киселина споредено со кравјото млеко (табела 4) (Lima et al., 2018).

Според Лопез и соработниците (Lopez et al., 2019), масните киселини со разгранет ланец се најрепрезентативни претставници во козјото млеко. Масните киселини со разгранет ланец се препознаваат како важни биоактивни компоненти поради нивната позитивна улога во гастроинтестиналната микробна екологија и поради потенцијалната антиканцерогена активност (Yang et al., 2000; Ran-Ressler et al., 2011).

### 1.1.3. Јаглехидрати

Лактозата е главниот и најзастапен јаглехидрат во козјото млеко, со просечна концентрација од околу 44 g/L. Таа претставува основна компонента на козјото млеко, а нејзиното ниво е приближно за 0,2-0,5 % пониско отколку во кравјото млеко (Nayik et al., 2022). Лактозата се синтетизира од гликоза во млечната жлезда со активно учество на млечниот протеин  $\alpha$ -лакталбумин. Таа е вредна хранлива материја, бидејќи ја олеснува интестиналната апсорпција на калциум, магнезиум и на фосфор, но го олеснува и искористувањето на витаминот Д (Park et al., 2007). Лактозата е дисахарид составен од една молекула гликоза и од една молекула галактоза, кои исто така може да бидат присутни во мали слободни количини (Park, 2006).

### 1.1.4. Минерали

Млекото е важен извор на минерални материји, особено калциум, фосфор, натриум, калиум, хлорид, јод, магнезиум и на мали количини железо. Главните минерали во млекото се калциумот (134 mg/100g) и фосфорот (121 mg/100g) кои се клучни за растот на коските и за правилниот развој на новороденчињата (Park et al., 2007; Al-Wabel, 2008). Високата биорасположливост на овие минерали ја нагласува уникатната хранлива вредност на млекото. Во табелата 5 е прикажана концентрацијата на минерали во козјото и во кравјото млеко.

Табела 5: Концентрацијата на минерали во козјо и во кравјо млеко

Минерал	Kondyli et al. (2007) Козјо млеко	Park et al. (2007) Козјо млеко	Park et al. (2007) Кравјо млеко
<b>(mg/100 g)</b>			
Калциум	132	134	122
Фосфор	97,9	121	119
Калиум	152	181	152
Магнезиум	15,8	16	12
Натрим	59,4	41	58
<b>(<math>\mu</math>g/100g)</b>			
Цинк	370	56	530
Железо	60	7	80
Бакар	80	5	60
Манган	6,53	3,2	20
Јод	/	2,2	2,1
Селен	/	1,33	0,96

Во современата европска исхрана, млекото претставува главен извор на калциум. Калциумот во органска или во минерална форма, врзан за казеин, покажува значајна достапност за време на варењето на млекото, а постои општа согласност дека неговата потенцијална биорасположливост е висока (Gueguen & Pointillart, 2000).

И покрај ниската концентрација на железо во козјото млеко, железото е повеќе биорасположливо во козјото отколку во кравјото млеко. Објаснувањето за тоа е дека козјото млеко содржи поголем удел на нуклеотиди кои придонесуваат за зголемена апсорпција во цревата (Raynal-Ljutovac et al., 2008).

### 1.1.5. Витамини

Млекото е вреден извор на витамини растворливи во вода и во масти. Козјото и овчето млеко се карактеризираат со повисоки концентрации на витамин А во споредба со кравјото млеко (Park, 2007). Целиот  $\beta$ -каротен во млекото од козите се претвора во ретинол, што резултира со изразена бела боја на млекото (Barłowska et al., 2011; Nayik et al., 2022). Козјото млеко претставува особено добар извор на витамин А (185 IU), ниацин (0,27 mg/100 g), тиамин (0,068 mg/100 g), рибофлавин (0,21 mg/100 g) и на пантотенска киселина (0,31 mg/100 g). Сепак, содржи околу петпати помалку витамин В<sub>12</sub> (0,065  $\mu$ g/100 g) и фолна киселина (1,0  $\mu$ g/100 g) отколку кравјото млеко (табела 6) (Park et al., 2007).

Табела 6: Содржина на витамини во козјо и во кравјо млеко (Park et al., 2007)

Витамин	Козјо млеко	Кравјо млеко
Витамин А (IU)	185	126
Витамин D (IU)	2,3	2
Тиамин (mg)	0,068	0,045
Рибофлавин (mg)	0,21	0,16
Ниацин (mg)	0,27	0,08
Пантотенска киселина (mg)	0,31	0,32
Витамин Б <sub>6</sub> (mg)	0,046	0,042
Фолна киселина ( $\mu$ g)	1	5
Биотин ( $\mu$ g)	1,5	2
Витамин Б <sub>12</sub> ( $\mu$ g)	0,065	0,357
Витамин Ц (mg)	1,29	0,94

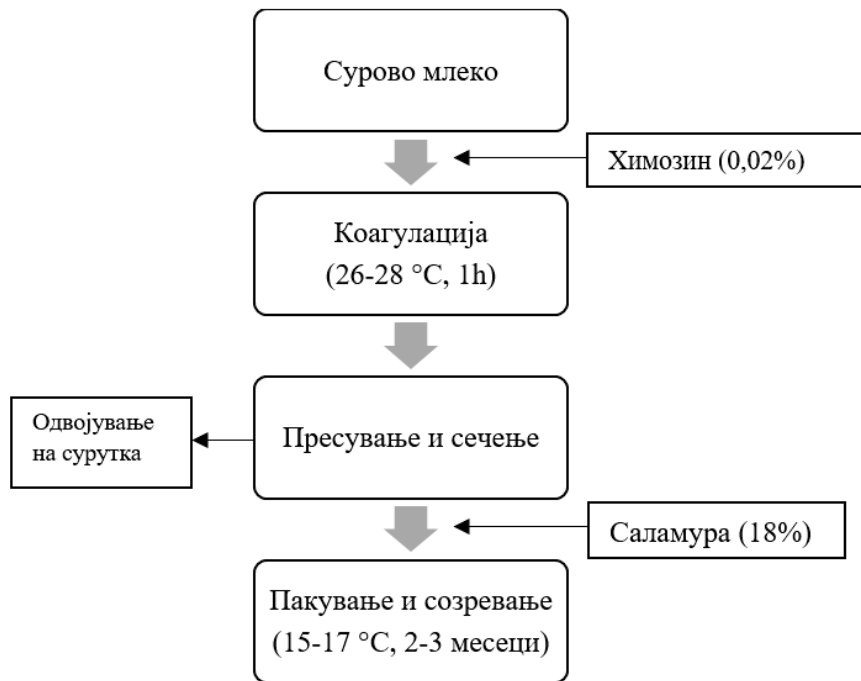
Недостатокот на овие два витамина (В<sub>12</sub> и фолна киселина) во човечката исхрана може да резултира со анемија, доколку диетата не обезбедува дополнителни извори за нив (Park, 2007; Raynal-Ljutovac et al., 2008).

## 1.2. Производство на бело саламурено сирење

Белото саламурено сирење се произведува со различни методи кои варираат меѓу земјите, а понекогаш и во рамките на иста земја, и се карактеризира со мека или полутврда текстура, без кора, има малку кисел вкус, што настанува поради дејството на

млечнокиселите бактерии за време на зреењето, и со солен вкус, кој произлегува од складирањето во саламура (7 %-18 % NaCl) (Hayaloglu, 2017). Најчесто сирењето се произведува од кравјо или од овчо млеко, во текот на производството се оформуваат коцки, кои потоа зреат во саламура во период од 90 дена. Но има и бели саламурени сирења кои зреат од 7 до 120 дена и се прават од биволско или од козјо млеко (Hayaloglu, 2017; Mateva et al., 2019). Традиционално, овој вид сирење се произведувал со децении од локални фармери со мал производствен капацитет, користејќи сурово млеко, едноставна опрема и техники пренесувани од генерација на генерација. Наместо комерцијални стартер-култури, занаетчиските (фармерски) производители се потпираат на автохтони микроорганизми природно присутни во суровото, непастеризирано млеко (Alichanidis & Polychroniadou, 2007).

Суровото млеко се преработува веднаш по молзењето, по што се транспортира до производителите на сирење, каде што се филтрира и веднаш се започнува со производството. Доколку процесот не може да започне веднаш, млекото се лади на температура под 6 °C. За производство на традиционално сирење се користи природна микробиота присутна во сурово млеко (Pešić-Mikulec & Jovanović, 2005). Шематски приказ на производството на бело саламурено сирење е прикажан на сликата бр. 1 (Mateva et al., 2019).



Слика бр. 1: Шематски приказ на производство на бело саламурено сирење (приспособено од Mateva et al., 2019)

Млекото се става во дрвени буриња и се коагулира при температура од 26-28 °C (понекогаш до 38 °C) со додавање ензим (химозин). Процесот трае од 45 до 180 минути. Наместо буриња, некои производители користат плитки дрвени корита обложени со газа или со пластична фолија за да се намалат загубите на масти. Примарната коагулација започнува по 10-15 минути, а целосната се постигнува за околу еден час, во зависност

од температурата и од условите (Mateva et al., 2019). Формираниот коагулум се завиткува во газа за одвојување на сурутката, а одозгора се ставаат дрвени тегови за рамномерно притискање. Откако површината ќе се излади, коагулумот се превртува, а по 3 – 4 минути се сече на коцки и се префрла во перфорирана рамка обложена со газа. Преку газата и отворите на рамката се одвојува преостанатата сурутка, со што завршува процесот на синереза. Издвоената сурутка е просирна и жолтеникава (Карас-Паркасева, 1988; Mateva et al., 2019). По завршувањето на самопресувањето, понекогаш се применува дополнително оптоварување за целосно одвојување на преостанатата сурутка. Во оваа фаза, температурата во просторијата не треба да надминува 18 °C, бидејќи повисока температура може да го забрза одвојувањето на сурутката и да предизвика прекумерна разградба на лактозата, што резултира со кисело сирење со изразени шуплини, што се смета како дефект. Пресувањето се врши постепено за да се избегне формирање кора и распаѓање на сирната маса (Mateva et al., 2019).

По завршувањето на пресувањето и по одвојувањето на сурутката (синереза), коагулумот се сече на коцки со соодветна големина во зависност од видот на белото саламурено сирење. Блоките најчесто се сечат на димензии 11-12 × 11-12 cm, иако тие варираат меѓу земјите (од 7×7×7 до 12×12×10 cm), според дијаметарот на користените контејнери (22 cm). Саламурата се подготвува однапред од морска сол и од природна вода, со концентрација од 18 % NaCl (понекогаш 7-25 %) измерена со салинометар (Abd El-Salam, 2003; Nayaloglu, 2017). Коцките сирење се потопуваат во корита со саламура, а површината се посолува со крупна морска сол со соодветен микробиолошки квалитет. По 12 часа, коцките се превртуваат и повторно се посолуваат за рамномерно распределување на солта. Во текот на процесот се следат концентрацијата и киселоста на саламурата, која треба да биде околу 8°SH – повисоки вредности предизвикуваат побавно солење. Температурата на саламурата обично е околу 15 °C (кај некои видови 10 – 18 °C) (Abd El-Salam, 2003; Nayaloglu, 2017; Mateva et al., 2019). Пакувањето на белото саламурено сирење се врши во лимени канти, а при поголеми количини во дрвени буриња. Без разлика на пакувањето, важно е коцките да се редат цврсто без празен простор и без деформации. Потоа се додава саламура со концентрација од 18 % и со киселост 24-40 °SH (60-100 °T), во количина од 10-15 % од вкупната маса на сирењето. Саламурата треба да биде бистра и со пријатен мирис. Спакуваното сирење се пренесува во просторија за зреење со контролирана температура (15-17 °C) и влажност (75-80 %), каде што зрее 2-3 месеци (Mateva et al., 2019). Кај некои видови, зреењето се одвива на 4-8 °C, на собна температура или со постепено менување на температурните услови (Nayaloglu, 2017).

### 1.3. Млечнокисели бактерии

LAB се карактеризираат како Грам-позитивни, неспороформирачки, каталаза-негативни, стапчести или сферични, кои произведуваат млечна киселина како главен краен производ на нивниот ферментативен метаболизам (Carmen et al., 2013; De Angelis & Calasso, 2014; Mokoena, 2017). Природните живеалишта на LAB се средини богати со хранливи материи, како што се: распаѓачки растителен материјал, млечни производи, ферментирани месни производи, ферментирани пијалаци, кисел зеленчук, но може да се

најдат и во цревниот и во гениталниот тракт на животните и на луѓето (Mokoena, 2017; Abedi & Hashemi, 2020). LAB предизвикуваат брза ацидификација на млекото со производство на органски киселини, првенствено млечна киселина (Ayivi et al., 2020). Потврдено е и дека LAB создаваат неповолна средина за патогени како *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* со намалување на рН-вредноста преку производството на млечна киселина (Settanni & Moschetti, 2010). Различни соединенија, како што се ацеталдехид, диацетил, ацетоин, кои се формираат со метаболизмот на LAB, се типични ароматични соединенија на неколку млечни производи (Wang et al., 2021). И некои млечнокисели бактерии се способни да произведуваат бактериоцини, кои имаат антимикробна активност против непатогени и патогени бактерии (Daba & Elkhateeb, 2020). Некои LAB широко се користени во прехранбената индустрија и го добија статусот „општо признати како безбедни“ (GRAS – Generally Recognized as Safe) одобрен од Европската агенција за безбедност на храната (EFSA – The European Food Safety Authority) и од Организацијата за храна и земјоделство на Соединетите Американски Држави (FAO – The Food and Agricultural Organization of the United States) (Nasrollahzadeh et al., 2022; Zapašnik et al., 2022). Статусот на квалификувана претпоставка за безбедност (QPS – Qualified Presumption of Safety) го доделува и Европскиот орган за безбедност на храната (EFSA, 2017). LAB кои имаат статус GRAS припаѓаат на родовите *Lactococcus*, *Oenococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* и *Streptococcus* sp. (Balciunas et al., 2013).

Некои претставници на LAB покажуваат ветувачки здравствени апликации како пробиотици. Пробиотиците се дефинирани како „живи микроорганизми кои кога се администрирани во соодветни количини, имаат корисен ефект врз здравјето на домаќинот“ (FAO/WHO, 2001). Пробиотските бактерии имаат здравствени својства, вклучувајќи антиоксидантна активност, својство против дебелина, модулација на имунолошките, респираторните и на гастроинтестиналните функции, а ја зголемуваат и биорасположливоста на хранливите материи и ги намалуваат симптомите на нетолеранција на лактоза (Parvez et al., 2006; Behnsen et al., 2013; Gao et al., 2025).

Ферментираната храна може да служи како носител и ефикасен систем за пренос на пробиотици, со што обезбедува здравствени придобивки кои произлегуваат и од изменетата прехранбена матрица и од пробиотските микроорганизми (Nithya et al., 2023). Општо земено, храната што содржи пробиотски микроорганизми треба да има минимален број живи клетки, при што нивната ефикасност е утврдена со клинички испитувања врз луѓе и се проценува дека е помеѓу  $10^6$  -  $10^8$  cfu/g (Martinez et al., 2015). Други автори сугерираат дека дневен внес од  $10^7$ - $10^9$  cfu/g пробиотски бактерии може да ја преживее проодноста низ горниот дигестивен тракт и да предизвика корисни физиолошки ефекти во човечкото тело (Terrou et al., 2019; Latif et al., 2023; Gul & Durante-Mangoni, 2024). Поради брзите промени во животната средина, потрошувачите сè повеќе се заинтересирани за функционална храна со додавање пробиотици, пребиотици, витамини, минерали, антиоксиданси и биоактивни соединенија кои помагаат во одржување на здравјето (Jang et al., 2024).

### 1.3.1. *Lactococcus*

Преставниците на родот *Lactococcus* се Грам-позитивни коки, кои во зависност од условите на растење можат да изгледаат овални и обично се со големина од 0,5-1,5  $\mu\text{m}$  (Batt, 2014a). Тие не формираат спори, се неподвижни, имаат ферментативен метаболизам и произведуваат големи количества млечна киселина. Нивните нутритивни барања се сложени и се ауксотрофни за повеќе аминокиселини и витамини. Оптималната температура за нивен раст е 30 °C, можат да растат и на температури до 10 °C, но не и на 45 °C (Batt, 2014a). Вообичаено растат во концентрација од 4 % (w/v) NaCl, со исклучок на *L. lactis* subsp. *cremoris*, кој може да толерира само 2 % (w/v) NaCl (Teuber, 1995; Carr et al., 2002). Нивниот главен краен продукт од ферментацијата на гликозата преку гликолитичкиот пат е L-млечна киселина (Teuber, 1995; Fox et al., 2000; Carr et al., 2002). Препознаени се неколку вида, но само *Lactococcus lactis* се користи како стартер-култура во млечни производи. Постојат три подвида на *L. lactis*: *L. lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris* и *L. lactis* subsp. *hordniae*, но само *L. lactis* subsp. *lactis* и *L. lactis* subsp. *cremoris* се користат како стартери (Mullan, 2014). Исто така, постои варијанта позната како биоваријанта на *L. lactis* subsp. *lactis*, која може да користи цитрат, наречена *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, која има индустриско значење за производството на диацетил (Mullan, 2014). Диацетилот е многу значајно соединение за аромата и за вкусот на незреени сирења (на пр., урда) и на многу ферментирани млечни производи (Fox et al., 2017a).

Примената на *L. lactis* во млечната ферментација обезбедува бројни придобивки во однос на развојот на вкусот, ацидификацијата и во однос на производството на биоактивни соединенија како што се гама-аминобутирна киселина (GABA), бактериоцини и други (Kondrotiene et al., 2024).

### 1.3.2. *Lactobacillus*

*Lactobacillus* се Грам-позитивни бактерии, кои не формираат спори и чии клетки обично се во стапчеста форма и со големина од 0,5-1,2  $\times$  1,0-10  $\mu\text{m}$  (Limsowtin et al., 2002). Лактобацилите се факултативни анаероби, но понекогаш нивниот раст се подобрува со присуство на 5 % јаглерод диоксид. Бидејќи се ауксотрофни за повеќе различни хранливи материи, за нивниот раст е потребна богата и комплексна хранлива подлога. Оптималната температура за раст е помеѓу 30 и 40 °C, но можат да растат во опсег од 5 до 53 °C. Бидејќи се ацидурични, нивниот оптимален раст се постигнува при рН од 5,5-5,8, но воопшто се смета дека можат да растат и при рН-вредност помала од 5 (Batt, 2014b). Лактобацилите можат да бидат хомоферментативни, произведувајќи од гликоза како извор на јаглерод повеќе од 85 % млечна киселина, или хетероферментативни, при што создаваат млечна киселина, CO<sub>2</sub>, етанол и/или оцетна киселина во приближно еднакви количини (Hammes & Vogel, 1995). Врз основа на нивното ферментативно однесување, лактобацилите се класифицираат во три групи (Hammes & Vogel, 1995; Fox et al., 2000; Salvetti et al., 2012; De Angelis & Gobbetti, 2016):

1. Строго хомоферментативни

Овие бактерии ферментираат хексози (на пр. гликоза) речиси исклучиво во млечна киселина преку патеката Embden-Meyerhof-Parnas (EMP). Видовите што припаѓаат на оваа група вклучуваат: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* и *Ligilactobacillus salivarius* (базоним *Lactobacillus salivarius*).

## 2. Факултативно хетероферментативни

Овие бактерии главно ферментираат хексози во млечна киселина, но можат да ферментираат и пентози, при што се создаваат млечна киселина, CO<sub>2</sub>, етанол и/или оцетна киселина. Најчести претставници се: *Lacticaseibacillus casei* (базоним *Lactobacillus casei*), *Lacticaseibacillus paracasei* (базоним *Lactobacillus paracasei*), *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* (базоним *Lactobacillus plantarum*) и *Latilactobacillus curvatus* (базоним *Lactobacillus curvatus*), кои типично се среќаваат во зрели сирења.

## 3. Строго хетероферментативни

Овие бактерии го користат фосфоглуконатниот пат за ферментација на хексози и на пентози, при што создаваат млечна киселина, етанол (или оцетна киселина) и CO<sub>2</sub> во приближно еднакви количини. Претставници во оваа група се видовите: *Levilactobacillus brevis* (базоним *Lactobacillus brevis*) и *Lentilactobacillus hilgardii* (базоним *Lactobacillus hilgardii*).

Родот *Lactobacillus* опфаќа голем број различни видови – 261 вид до март 2020 година (Zheng et al., 2020). Меѓутоа, неодамна Женг и соработниците (Zheng et al., 2020) предложија формирање на 23 нови рода, врз основа на геномската филогенија, како и врз основа на нивните еколошки и метаболички својства. Овие нови родови вклучуваат: *Holzapfelia*, *Amylolactobacillus*, *Bombilactobacillus*, *Companilactobacillus*, *Lapidilactobacillus*, *Agrilactobacillus*, *Schleiferilactobacillus*, *Loigolactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Latilactobacillus*, *Dellaglioia*, *Liquorilactobacillus*, *Ligilactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Furfurilactobacillus*, *Paucilactobacillus*, *Limosilactobacillus*, *Fructilactobacillus*, *Acetilactobacillus*, *Apilactobacillus*, *Levilactobacillus*, *Secundilactobacillus* и *Lentilactobacillus*.

Нивната способност да ацидифицираат и да ги подобруваат аромата, текстурата и нутритивната вредност на храната ја објаснува нивната широка примена во производството и во конзервацијата на храна (Rafique et al., 2023). Овие бактерии успешно опстојуваат во различни средини богати со јаглехидрати, вклучувајќи храна, растенија, отпадни води, како и оралниот, гениталниот и гастроинтестиналниот тракт кај луѓето и кај животните (Claesson et al., 2007). Многу видови се и дел од коменсалната интестинална микробиота кај луѓето и кај животните (Rafique et al., 2023). Некои лактобацили се класифицираат како пробиотици поради нивното позитивно влијание врз здравјето на домаќинот (Claesson et al., 2007; Samedi & Charles, 2019).

### 1.3.3. *Enterococcus*

*Enterococcus* се Грам-позитивни, факултативно анаеробни коки (Krawczyk et al., 2021). Тие не формираат спори, се подвижни и имаат хомоферментативен метаболизам,

при кој краен производ од ферментацијата на гликозата преку гликолитичкиот пат е L-млечна киселина (Coelho et al., 2022). Растат при температури помеѓу 10 °C и 45 °C, со оптимален раст за повеќето видови во опсег од 35 °C до 37 °C (Franz et al., 2010).

Овие бактерии играат клучна улога во зреењето на млечните производи, најверојатно преку процеси на протеолиза, липолиза, продукција на егзополисахариди и на разградба на цитрат, со што на млечните производи им се дава специфичен вкус и посебна арома (M'hir et al., 2012). Постојат извештаи за видовите *Enterococcus* кои произведуваат бактериоцини (Favaro et al., 2014). Ентерококите активно се проучувани и како потенцијални пробиотици, а меѓу нив се издвојува *Enterococcus faecium*, кој веќе се наоѓа на пазарот и е поврзан со позитивни здравствени ефекти како што се намалување на нивото на холестерол, олеснување дијареја и регулирање на имунолошкиот систем (Kim et al., 2023). Некои видови *Enterococcus* имаат значајно клиничко значење, бидејќи претставуваат едни од главните причинители на инфекции поврзани со здравствената заштита (Verma & Kashyap, 2024). Еден од најзагрижувачките аспекти на *Enterococcus* е нивната вродена отпорност на неколку често користени антибиотици, вклучувајќи некои бета-лактами како цефалоспорини, аминокликозиди, триметоприм-сулфаметоксазол и клиндамицин (Staley et al., 2014; Calatrava, 2022). Ентерококите се поврзани со гастроинтестиналниот тракт кај луѓето и кај животните, но можат да се изолираат и од храна како месо, млечни производи и растителни намирници (Švec & Franz, 2014). Ентерококите сочинуваат дел од доминантната микробиота во сирењата од сурово млеко, при што најчести видови се *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus durans* (Terzić-Vidojević et al., 2020).

И покрај нивните потенцијални придобивки, употребата на *Enterococcus* како индустриски култури во производството на храна е ограничена поради недостиг на официјален безбедносен статус (Nanchi et al., 2018). Потребно е подобро разбирање на нивното влијание врз здравјето на човекот, не само за да се утврдат ризиците поврзани со нивната способност за ширење гени за вирулентност и за антибиотска резистенција, туку и за да се искористи нивниот потенцијал како корисни, заштитни и пробиотски култури.

#### 1.3.4. *Streptococcus*

Родот *Streptococcus* опфаќа Грам-позитивни, каталаза-негативни, факултативно аеробни и хомоферментативни коки кои произведуваат L(+)-млечна киселина како главен краен производ од ферментацијата на гликозата. Клетките се појавуваат во сферична или овална форма и обично се распоредени во ланци или парови кога растат во течни подлоги (Toit et al., 2014). *Streptococcus thermophilus* се користи ширум светот како стартер-култура при производството на различни млечни производи (Hols et al., 2005, Delorme, 2008), која може да се применува самостојно или во комбинација со други стартер-култури (Broadbent et al., 2003). Клучната улога на овој вид е претворањето на лактозата во млечна киселина, со што се намалува рН-вредноста и се овозможува конзервирање на производот. Покрај тоа, тој придонесува и со производство на секундарни метаболити, како што се егзополисахариди и соединенија одговорни за аромата (Broadbent et al., 2003). Докажано е дека *Streptococcus thermophilus* произведува

бактериоцини, наречени термофилини, кои делуваат против одредени микроорганизми што предизвикуваат расипување на млечните производи (Rossi et al., 2013), а некои соеви покажуваат и пробиотски својства (Fijan, 2014).

Родот *Streptococcus* опфаќа различни видови кои се дел од нормалната микробиота на мукозните мембрани во усната празнина, во горниот респираторен и долниот генитален тракт. Истовремено, тие можат да бидат и предизвикувачи на гнојни инфекции, кои по тежина варираат од лесни воспаленија на грлото до инвазивни инфекции, апсцеси, бактериемија, пневмонија, менингитис и стрептококен токсичен шок-синдром (Gergova et al., 2024). Некои од соевите на *Streptococcus* кои се патогени за човекот се *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* и *Streptococcus agalactiae* (Coelho et al., 2022). Иако некои непатогени соеви на *Streptococcus* се користат во производството на храна, загриженоста за можна контаминација или вкрстена контаминација ги ограничува нивната широка примена и добивањето на статус GRAS.

### 1.3.5. *Leuconostoc*

Родот *Leuconostoc* се состои од Грам-позитивни, катализа-негативни, неподвижни клетки со неправилна сферична морфологија, со оптимална температура за раст во опсег од 20-30 °C (McSweeney, 2007). Видовите *Leuconostoc* (претежно *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*) обично не се користат за производство на киселина во млечните ферментации, туку главно како производители на вкус, во комбинација со чисти или мешани соеви на *L. lactis* subsp. *lactis* и/или *L. lactis* subsp. *cremoris* при производство на различни ферментирани млечни производи. Овие производи вклучуваат повеќе видови сирења (крем-сирење, свежо сирење, фета, гауда, едам, хаварти, кварк и сини сирења), култивирана матеница, култивирана павлака и скандинавски ферментирани млечни производи (Endo et al., 2022). *Leuconostoc* spp. играат важна улога во менувањето на органолептичките својства и на текстурата на прехранбените производи, како што се млеко, путер, сирење и месо (Hemme & Foucaud-Scheunemann, 2004). Бидејќи строго се хетероферментативни LAB, производството на CO<sub>2</sub> може да ја менува текстурата и да предизвика доцно надувување кај одредени сирења, иако тоа честопати доведува до умерено формирање „очи“ во сирењето (Smid et al., 2014). *Leuconostoc* spp. широко се распространети во околината и се изолирани од растителна материја, човечки клинички извори и од храна, како што се: месо чувано на ладно и ферментирано месо, ферментиран зеленчук и ферментирани млечни производи. Ограничен број *Leuconostoc* spp., поврзани со човечки инфекции е пријавен, меѓутоа, поврзаните соеви се сметаат за опортунитистички патогени кај подложни имунокомпромитирани лица, а родот е „општо признат за безбеден“ (Endo et al., 2022).

### 1.3.6. *Pediococcus*

Родот *Pediococcus* се состои од Грам-позитивни, катализа-негативни, неподвижни, сферични клетки, кои најчесто се појавуваат во парови или тетради. Тие се факултативно анаеробни и растат во температурен опсег од 25 до 50 °C. Покажуваат отпорност на сол, при што некои соеви можат да растат во средина што содржи 6,5 % NaCl, и растат во широк pH-опсег (од 4,5 до 8,2). Од млечните производи најчесто се изолираат видовите

*Pediococcus pentosaceus* и *Pediococcus acidilactici*, кои се доминантни претставници на овој род (McSweeney, 2007). Овие бактерии придонесуваат за закиселување, развој на вкусот и за микробна безбедност за време на ферментацијата (Todorov et al., 2023).

Нивната способност да произведуваат антиминокробни пептиди (бактериоцини) ја засилува нивната улога како заштитни култури (Albano et al., 2007; Gutierrez-Cortes et al., 2018). Неколку соеви на *Pediococcus* покажуваат пробиотски ефекти, како што се имуномодулација, регулација на цревната микробиота, намалување на холестеролот и антиинфламаторна активност (Chang et al., 2020; Kim et al., 2021).

## 1.4. Функционални и метаболички својства на млечнокиселите бактерии

### 1.4.1. Протеолитичка активност

Млечнокиселите бактерии поседуваат неколку метаболички својства кои придонесуваат за биохемиските процеси на гликолиза, протеолиза, производство на диацетил и липолиза, кои се од примарно значење во производството на сирење (Pérez, et al., 2003). Протеолитичката активност на млечнокиселите бактерии привлекува значително внимание поради тоа што може да подобри бројни посакувани својства на храната (Ter et al., 2024). Протеолитичкиот систем кај LAB покажува значителни варијации на ниво на вид и на сој, што резултира со различна функционалност во хидролизата на протеините (García-Cano et al., 2019).

Во табелата 7 се претставени неколку вида млечнокисели бактерии кои произведуваат протеолитички ензими (Ter et al., 2024).

Табела 7: Млечнокисели бактерии кои произведуваат протеолитички ензими (Ter et al., 2024)

Протеолитички LAB	Протеолитички производ	Примена во храната
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Пептиди (антиоксидантни, антихипертензивни, антихипергликемични, имуностимулирачки, антиминокробни, опиоидни пептиди и минерални врзувачки пептиди); <b>органиски киселини</b> (млечна, оцетна и бензоева киселина); <b>бактериоцини</b> ; <b>егзополисахариди</b> ; <b>ароматични соединенија</b> (кетони, естри, алкохоли и алдехиди)	Ферментирано млеко; јогурт; ферментиран соин протеин; ферментиран протеин од сурутка
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Пептиди (антихипертензивни и антиминокробни пептиди); <b>бактериоцини</b> (ацидоцин В); <b>органиски киселини</b> (млечна, лимонска, оцетна и пропионска киселина); <b>витамини</b> (никотинамиди (Б <sub>3</sub> ), пиридоксини (Б <sub>6</sub> ), фолати (Б <sub>9</sub> )); <b>ароматични соединенија</b> (кетони, алдехиди и алкохоли)	Ферментирано млеко; јогурт; ферментиран соин протеин; ферментирано месо; ферментиран колбас

<i>Lactobacillus delbrueckii</i> spp. <i>bulgaricus</i>	<b>Пептиди</b> (антиоксидативни, антихипертензивни и антимикуробни пептиди); <b>органски киселини</b> (млечна, оцетна, капроична, и бутанска киселина); <b>ароматични соединенија</b> (диацетил, ацеталдехид, 2,3-бутандион и $\delta$ -декалактон); <b>витамини</b> (фолати (B <sub>9</sub> ))	Ферментирано млеко; јогурт; сирење
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	<b>Пептиди</b> (антиоксидативни, антихипертензивни, антиинфламаторни и антимикуробни пептиди); <b>бактериоцини</b> (плантарицин); <b>екзополисахариди</b> ; <b>органски киселини</b> (млечна, оцетна, винска, јаболкова и лимонска киселина); <b>витамини</b> (фолати (B <sub>9</sub> ) и рибофлавини (B <sub>2</sub> )); <b>ароматични соединенија</b> (3-метилбутанал, хексанал, (E)-2-октенал, нонанал, 2-хептанон, 2-нонанон и ацетоин)	Ферментирано млеко; сирења; ферментирани колбаси; ферментирана риба; кисела зелка; кисело тесто
<i>Latilactobacillus curvatus</i>	<b>Пептиди</b> (антимикуробни и антихипертензивни пептиди); <b>бактериоцини</b> (курвацин А и сакацин Р); <b>екзополисахариди</b> (декстран); <b>органски киселини</b> (млечна, оцетна, лимонска, и бутерна киселина)	Ферментирано месо; ферментиран колбас; кисело тесто; сирење
<i>Latilactobacillus sakei</i>	<b>Пептиди</b> (антихипертензивни, антилистериски и антимикуробни пептиди); <b>бактериоцини</b> (сакацин Р); <b>витамини</b> (рибофлавини (B <sub>2</sub> ), никотинамиди (B <sub>3</sub> ), пиридоксини (B <sub>6</sub> ), фолати (B <sub>9</sub> )); <b>екзополисахариди</b> (декстри); <b>органски киселини</b> (млечна и оцетна киселина)	Ферментиран колбас; сушено месо од јак; ферментирани пченични никулци
<i>Lactocaseibacillus paracasei</i>	<b>Пептиди</b> (антимикуробни, антихипертензивни, антиоксидативни, имуномодулаторни и антиинфламаторни пептиди); <b>органски киселини</b> (млечна, оцетна, пропионска, и бутерна киселина); <b>полифеноли</b> (изофлавонони); <b>екзополисахариди</b> ; <b>витамини</b> (ниацин (B <sub>3</sub> ), пиридоксин (B <sub>6</sub> ), фолати (B <sub>9</sub> ) и холекалциферол (D <sub>3</sub> ))	Јогурт; ферментирана соја; ферментиран течен десерт; ферментирано зачинето месо од зајак
<i>Lactococcus lactis</i>	<b>Пептиди</b> (антихипертензивни, антимикуробни и пептиди кои врзуваат калциум и железо); <b>бактериоцини</b> (лактокоцин Q); <b>органски киселини</b> (млечна, оцетна, јантарна, пропионска и бутерна киселина); <b>витамини</b>	Ферментирано млеко; сирење; ферментиран глутен

	(менахинон (K <sub>2</sub> )); <b>ароматични соединенија</b> (диацетил, 2-метилпропанал и 3-метилбутанал)	
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<b>Пептиди</b> (антифунгални и антимикробни пептиди); <b>бактериоцини</b> (мезентерицин Y105); <b>екзополисахариди; органски киселини</b> (млечна, оцетна и линолна киселина); <b>ароматични соединенија</b> (скеталдехиди)	Ферментирано млеко; ферментирана соја; кисела зелка; кимчи; женшен (ginseng)
<i>Pediococcus acidilactici</i>	<b>Пептиди</b> (антимикробни, антибактериски и антихипертензивни пептиди); <b>бактериоцини</b> (педиоцин PA-1); <b>екзополисахариди; органски киселини</b> (млечна, јаболкова, лимонска, пропионска и оцетна киселина); <b>ароматични соединенија</b> (естери, терпени, етилацетати, етилооктанати и етилдеканати)	Ферментирано млеко; ферментирани школки; ферментирани овчи колбаси; ферментирано пченично тесто
<i>Streptococcus thermophilus</i>	<b>Пептиди</b> (антимикробни, антихипертензивни и антиинфламаторни пептиди); <b>бактериоцини; екзополисахариди; органски киселини</b> (млечна и оцетна киселина); <b>ароматични соединенија</b> (алдехиди, кетони, алкохоли, естери и јаглеводороди); <b>витамини</b> (фолати (B <sub>9</sub> ))	Ферментирано млеко; ферментирано соино млеко; ферментиран протеин од сурутка
<i>Enterococcus faecalis</i>	<b>Пептиди</b> (антимикробни и антихипертензивни пептиди); <b>бактериоцини; екзополисахариди; органски киселини</b> (млечна, оцетна и мравја киселина); <b>витамини</b> (кобаламин (B <sub>12</sub> )); <b>ароматични соединенија</b> (диацетил, ацетоин и 2,3-бутандиол)	Ферментирано млеко; ферментирана соја; ферментирани пченични трици
<i>Weissella confusa</i>	<b>Пептиди</b> (антимикробни пептиди); <b>бактериоцини; екзополисахариди</b> (галактани и декстри); <b>органски киселини</b> (млечна и оцетна киселина); <b>витамини</b> (фолати (B <sub>9</sub> ))	Ферментирано млеко; ферментиран колбас; леб од кисело тесто

Протеолизата кај млечнокиселите бактерии опфаќа разградување протеини, транспорт на пептиди, разградување пептиди и катаболизам на аминокиселини. Протеолизата кај LAB започнува со клеточната протеиназа (СЕР), која ги разградува протеините во олигопептиди. Пептидите потоа се внесуваат во клетките преку транспортни системи за олиго-, ди- и трипептиди (Opp, DtpP, DtpT). Внатре, различни пептидази ги разложуваат пептидите во аминокиселини. Метаболизмот на аминокиселините вклучува деаминација, декарбоксилација и трансформација во α-кето

киселини, кои понатаму се претвораат во хидрокси киселини, алдехиди и СоА-естри. Алдехидите се оксидираат до алкохоли или хидрогенираат до органски киселини, кои служат како супстрати за синтеза на естри преку естерази и ацилтрансферази (Wang et al., 2021).

LAB произведуваат бројни вредни соединенија додека хидролизираат протеини во храната за да ги задоволат нивните потреби за раст. Овие супстанции, создадени за време на протеолитичката ферментација, вклучуваат пептиди и аминокиселини, органски киселини, бактериоцини, витамини, екзополисахариди и соединенија за вкус (Mora-Villalobos et al., 2020). Ваквите производи, поради нивните својства кои го промовираат здравјето, го поттикнуваат користењето на протеолитичка ферментација на LAB во производството на функционална храна (Abdul Hakim et al., 2023).

Пептидите и слободните аминокиселини кои се неопходни за растот на бактериите, можат да делуваат и како биоактивни пептиди со здравствени придобивки, вклучувајќи антиоксидативно, антихипертензивно, антимикубно, антидијабетично, антиканцерогено и имуномодулаторно дејство (Ajayeoba & Ijabadeniyi, 2023). Нивната биолошка активност зависи од структурни карактеристики како состав на аминокиселини, секвенција, должина на ланец и хидрофобност (Ahmed et al., 2022). Истражувањата покажале дека ферментирани производи како колбаси, соино млеко, млеко и риба создаваат пептиди со специфични секвенции кои придонесуваат за антиоксидативно и антихипертензивно дејство (Amorim et al., 2019; Kong et al., 2020; Chourasia et al., 2022; Zhi et al., 2022).

За време на протеолитичката ферментација, LAB ослободуваат различни органски киселини, како што се млечна, оцетна, мравја, сукцинска, лимонска, капроична и линолна киселина (Mora-Villalobos et al., 2020). Органските киселини играат важна улога во подобрување на вкусот, стабилноста и рокот на траење на храната, како и во регулирање рН и антиоксидативна заштита (Shi et al., 2022). Дополнително, тие покажуваат антиинфламаторни, антибактериски, имуностимулирачки и антиобезни ефекти. Истражувањата покажале дека органските киселини произведени од *L. plantarum* значително придонесуваат за вкусот и за продолжување на рокот на траење на ферментирани производи, дури и без употреба на комерцијални конзерванси (Mashitoa et al., 2023; Kanjan & Sakpetch, 2023).

Бактериоцините се антимикубни пептиди синтетизирани рибозомски од бактерии, со бактеростатско дејство против широк спектар патогени микроорганизми (Simons et al., 2020). Иако ги продуцираат и други Грам-позитивни и Грам-негативни бактерии, млечнокиселите бактерии се меѓу најзначајните производители, а некои бактериоцини како нисин, мицоцин В17 и педиоцин РА-1 се одобрени за комерцијална употреба во прехранбената индустрија (Naskar & Kim, 2021; Aljohani et al., 2023). Овие соединенија ефикасно го инхибираат растот на бројни патогени, вклучувајќи *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 и *Clostridium botulinum* (Mohamad et al., 2022).

Витамините се есенцијални микронутриенти неопходни за нормална клеточна функција, за нормален раст и развој. Одредени соеви на млечнокисели бактерии можат да синтетизираат витамин К и повеќе водорастворливи витамини од В-групата,

вклучувајќи В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub> и В<sub>9</sub>, за време на протеолитичката ферментација (Wang et al., 2021). Бидејќи организмот на цицачите сам не може да ги синтетизира овие витамини, ферментираната храна претставува важен извор. Истражувањата покажале дека различни соеви на LAB значително ја зголемуваат содржината на В-витамини и на витамин К<sub>2</sub> во производи како јогурт, ферментирано млеко и во ферментирани пијалаци (Oguro et al., 2017; Hamzehlou et al., 2018; Вøe & Holo, 2020). Оваа микробна синтеза претставува безбедна и економична алтернатива на синтетичката витаминска фортификација, при што изборот на соодветен сој на LAB е клучен за постигнување висока концентрација и биорасположливост на витамините во ферментираните производи.

Протеолитичката ферментација со млечнокисели бактерии ја зголемува содржината на вкусоактивни пептиди и аминокиселини, кои дополнително се метаболизираат во алкохоли, алдехиди, органски киселини, естри и во сулфурни соединенија, неопходни за развој на специфични ароми (Ter et al., 2024). Аминокиселините може да се класифицираат според вкусот што се поврзува со нивното присуство – умами, сладок и горчлив, при што тие директно влијаат врз сензорните својства и служат како супстрати за синтеза на ароматични соединенија (Zhao et al., 2016). Истражувањата покажуваат дека одредени аминокиселини придонесуваат за умами и за сладок вкус во ферментирани производи, додека соединенија како кетоните имаат значајна улога во развојот на аромата, особено кај сирењата (Caron et al., 2021).

#### 1.4.2. Липолитичка активност

Липолизата претставува хидролиза на триглицеридите со која се создаваат слободни масни киселини, глицерол и меѓупроизводи како што се моно- и диглицериди. Овие меѓупроизводи ги емулгираат другите компоненти во храната, со што придонесуваат за развојот на текстурата на финалниот производ (Esteban-Torres et al., 2014). Степенот на липолиза предизвикана од млечнокиселите бактерии помага при изборот на соеви што се користат како стартер-култури. Ова својство особено е значајно за ферментацијата на зеленчук, примената во пекарската индустрија и за развојот на аромата кај ферментираните млечни производи (Tanasupawat et al., 2015).

Млечнокиселите бактерии генерално се сметаат за слаболиполитични во споредба со видовите од родовите *Penicillium* и *Pseudomonas* (McSweeney & Sousa, 2000; Fiorino et al., 2023). Сепак, кај производи како што се сирењата со продолжен период на зреење, липолитичката активност на LAB придонесува за развојот на аромата и служи како основа за понатамошни реакции кои резултираат со создавање катаболни крајни производи (Collins et al., 2003a).

Иако LAB не се карактеристични по изразена липолитичка активност, постојат извештаи за липолитичка активност кај одредени соеви на *Lactobacillus*, поточно липолитичката активност на видовите *L. helveticus*, *L. delbrueckii*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. plantarum* и *L. acidophilus* е предмет на научни истражувања (El-Soda et al., 1986; Fernandez et al., 2000). Евидентирано е дека *Enterococcus* spp. покажуваат релативно поголема липазна активност, иако податоците честопати се контрадикторни, што може

да се објасни со варијации помеѓу соевите во експресијата на ензимот или со разликите во експерименталните услови (Suzzi et al., 2000; El-Din et al., 2002; Psomas et al., 2023).

Слободните масни киселини (FFAs), ослободени како резултат на липолитичката активност, имаат двојна улога во развојот на вкусот на сирењето. Прво, тие директно придонесуваат за сензорната перцепција, особено масните киселини со краток и со среден ланец (C4:0-C12:0), кои имаат ниски прагови на перцепција и се поврзани со остри и карактеристични сирењски ароматски ноти (McSweeney & Sousa, 2000; Thierry et al., 2017). Второ, FFAs служат како клучни прекурсори за понатамошни биохемиски реакции кои доведуваат до формирање ароматични соединенија за време на зреењето на сирењето.

Кај бактериски зреените сирења, постепеното ослободување на FFAs од млечнокисели starter- и non-starter-бактерии придонесува за комплексноста на вкусот, иако LAB генерално се сметаат за слаболиполитични. Поради нивното продолжено присуство и поради автолизата за време на зреењето, ензимите на LAB добиваат пристап до липидните супстрати и ослободуваат FFAs кои можат да претрпат понатамошни метаболички трансформации (Collins et al., 2003b). Овие трансформации главно резултираат со формирање естри и други испарливи соединенија кои го подобруваат целокупниот ароматичен профил на сирењето.

Естрите формирани од FFAs, особено етил естри на масни киселини со краток и со среден ланец, придонесуваат за пријатни овошни и слатки ноти и можат да ја ублажат остријата поврзана со слободните масни киселини. Синтезата на овие естри е под влијание на условите на животната средина за време на зреењето, како што се активноста на водата, концентрацијата на сол и достапноста на алкохоли, особено етанол произведен со микробен метаболизам (Collins et al., 2003a; Thierry et al., 2006).

Иако липолизата кај бактериски зреените сирења се јавува во ограничена мера во споредба со другите видови сирења, сепак, таа е од суштинско значење за развој на избалансиран вкус. Прекумерната акумулација на масни киселини може да резултира со сензорни дефекти како што е ужегнатост, додека недоволната липолиза може да доведе до рамен или неразвиен вкус. Затоа, контролираната липолитичка активност и последователниот метаболизам на масни киселини се клучни фактори за постигнување на посакуваниот профил на вкус кај сирењата зрени првенствено од млечнокисели бактерии (Thierry et al., 2017).

### 1.4.3. Продукција на егзополисахариди

Микробните егзополисахариди се полимери поврзани со надворешната површина на клетката, кои можат да бидат ковалентно врзани и да формираат капсули, или, пак, полабаво прикачени, при што се развива „кончест“ слој (Ruas-Madiedo & de los Reyes-Gavilán, 2005). Млечнокиселите бактерии, како и други Грам-позитивни бактерии кои се користат во производството на храна, на пр. и бифидобактерии и пропионибактерии имаат способност да продуцираат EPS. Овие биополимери во последниве години привлекуваат сè поголемо внимание поради нивната технолошка примена во млечните производи и нивните потенцијално корисни својства за здравјето на луѓето (Ruas-Madiedo et al., 2002). Поголемиот дел од LAB кои продуцираат EPS се изолирани од

различни ферментирани намирници како што се кисели теста, колбаси, маслинки, сирења, јогурт, кефир, други ферментирани млечни производи и некои традиционални храни од неиндустијализирани земји (Ruas-Madiedo & de los Reyes-Gavilán, 2005; Mozzi et al., 2006).

Табела 8: Видови LAB, бифидобактерии и пропионибактерии присутни во храната кои произведуваат хомополисахариди (HoPS) и хетерополисахариди (HePS) (Ruas-Madiedo et al., 2010)

	Род	Видови
<b>HoPS</b>		
<b>α-гlukan</b>	<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i>
	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lb. reuteri</i> , <i>Lb. sakei</i> , <i>Lb. fermentum</i> , <i>Lb. plantarum</i>
	<i>Leuconostoc</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i> , <i>Leuconostoc citreum</i>
	<i>Weissella</i>	<i>Weissella cibaria</i>
<b>β-гlukan</b>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lb. diolivorans</i>
	<i>Oenococcus</i>	<i>Oenococcus oeni</i>
	<i>Pediococcus</i>	<i>Pediococcus parvulus</i> , <i>Pediococcus damnosus</i>
<b>Фруктан</b>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. panis</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. reuteri</i> , <i>Lb. sanfranciscensis</i>
	<i>Leuconostoc</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<b>Полигалактан</b>	<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
<b>HePS</b>		
	<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>
	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lb. curvatus</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. paracasei</i> , <i>Lb. rhamnosus</i> , <i>Lb. sakei</i> , <i>Lb. sanfranciscensis</i>
	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus macedonius</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>
	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Bifidobacterium lactis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i>
	<i>Propionibacterium</i>	<i>Propionibacterium acidipropionici</i> , <i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i>

Во зависност од хемискиот состав, EPS произведени од LAB се класифицираат како хомополисахариди (HoPS), кои содржат еден тип моносахарид, главно гликоза

(Glc) или фруктоза (Fru), наречени глукани и фруктани, соодветно, и хетерополисахариди (HePS), кои се составени од повторувачки единици од различни моносахариди, супституирани моносахариди и други органски и неоргански молекули. Според нивната примарна структура, односно според типот на врска меѓу шеќерите, глуканите се класифицираат како  $\alpha$ -D-глукани (на пр. декстрини, мутани, алтернани и реутерани) и  $\beta$ -D-глукани (Табела 8) (Ruas-Madiedo et al., 2010).  $\alpha$ -глуканите од LAB присутни во храната главно се продуцирани од припадници на родовите *Leuconostoc*, *Lactobacillus* и *Weissella* (Korakli & Vogel, 2006).

$\beta$ -глуканите не се продуцирани често од LAB и само неколку соеви, кои припаѓаат на видовите *Lactobacillus diolivorans*, *Pediococcus damnosus*, *Pediococcus parvulus* и *Oenococcus oeni*, се пријавени како производители (Walling et al., 2005; Werning et al., 2006).  $\beta$ -фруктаните се поврзани со родовите *Leuconostoc*, *Lactobacillus* и *Weissella* (Ruas-Madiedo et al., 2010). И сојот *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* H414 е способен да произведува полигалактан кој содржи само галактоза (Gal), но со различни врски што формираат повторувачка единица од пентасахарид (Gruter et al., 1992). Генерално, HoPS имаат главна моносахаридна рамка со варијабилан степен на: разгранување, должина на страничните ланци и типови на врски меѓу шеќерите, кои се разликуваат меѓу бактериските соеви. Тие обично се молекули со голема молекуларна маса (Korakli & Vogel, 2006).

HePS од LAB се составени од повторувачки единици кои формираат скелет на полимерот, кој може да биде разгранет или неразгранет. Повторувачките единици содржат 3-8 моносахариди, при што најчести се d-Glc, d-Gal и l-рамноза (l-Rha). Дополнително, тие можат да содржат N-ацетилглукозамин (GlcNAc), N-ацетилгалактозамин (GalNAc), фукоза (Fuc), рибоза (Rib), маноза (Man), како и други супституенти како глукуронска киселина (GlcA), ацетил, глицерол и фосфатни групи. Видови што продуцираат HePS се присутни кај родовите *Lactococcus*, *Lactobacillus* и *Streptococcus*, како и кај *Bifidobacterium* и *Propionibacterium*, кои се користат при преработката на храна (Табела 8) (Ruas-Madiedo et al., 2010).

Неколку студии ја прикажуваат улогата на EPS-продуцирачките млечнокисели бактерии врз својствата на сирењето (табела 9).

Во нискомасни сирења, EPS придонесуваат за подобро задржување влага, подобро топење и за помеска, помазна текстура, надоместувајќи ја намалената маснотија. Во полумасни и полномасни сирења, EPS главно ги зголемуваат приносот и способноста за задржување вода, истовремено одржувајќи сензорни карактеристики како вкус, цваќање и општа прифатливост. Типот на EPS (кончести наспроти капсуларни) и специфичниот сој на бактерии влијаат врз реолошките и текстуралните својства, нагласувајќи го потенцијалот на целно избрани EPS-продуцирачки култури за оптимизација на квалитетот на сирењето.

Покрај нивната технолошка улога во ферментирани прехранбени производи, егзополисахаридите продуцирани од млечнокиселите бактерии привлекуваат сè поголемо внимание поради нивниот потенцијал за подобрување на здравјето. Овие биолошки ефекти во голема мера зависат од структурните карактеристики на EPS, како што се молекулската тежина, електричниот полнеж, степенот на разгранетост и составот на моносахаридите (Salimi & Farrokh, 2023).

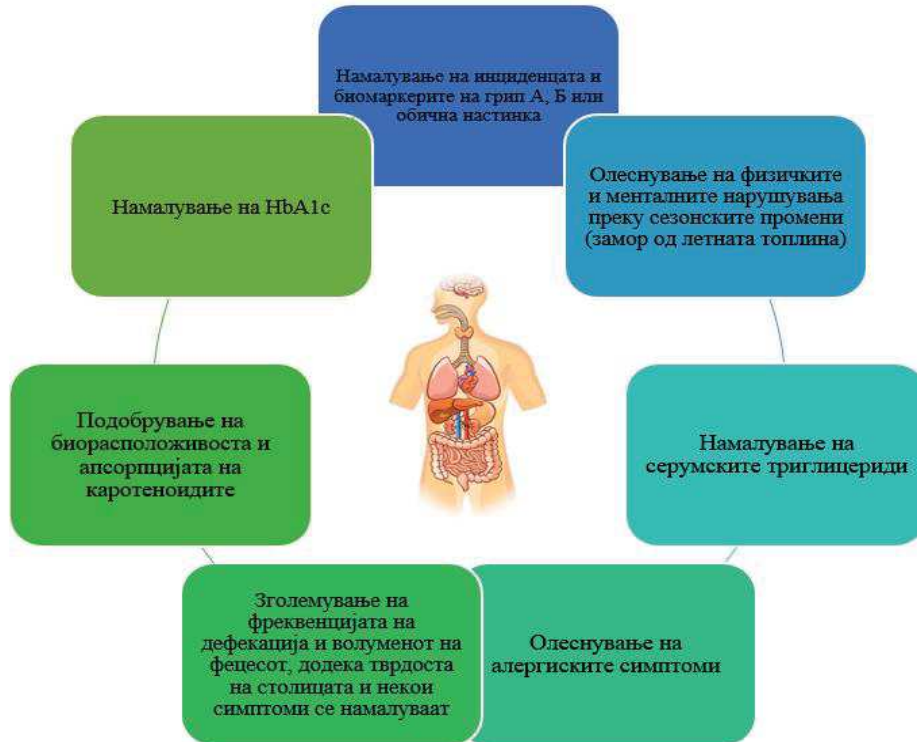
Табела 9: Ефекти на екзополисахаридите произведени од млечнокисели бактерии врз својствата на сирењето

Тип на сирење	EPS-продуцирачка култура/сој	Главни ефекти на EPS	Референција
Моцарела	EPS-продуцирачки <i>Lactobacillus</i> spp.	Зголемена содржина на влага и подобро топење	Broadbent et al. (2001)
Чедар	Изогени EPS-продуцирачки соеви на <i>Lactococcus lactis</i>	Зголемен принос на сирење; без негативна интеракција со starter или култури за зреење; сензорни својства слични на полномасен чедар по зреење	Costa et al. (2010)
Кашкавал	Мешана starter-култура која содржи EPS-продуцирачки соеви	Подобрени физичко-хемиски и текстуални својства; помалку компактен протеински матрикс и сунѓереста структура	Şanlı et al. (2013)
Свежо сирење (модел на кисел млечен гел)	EPS-продуцирачки <i>Lactococcus lactis</i> (кончести (гору) и капсуларни EPS)	Кончестите (анг. гору) EPS ги намалуваат големината на протеинските честички и кремавоста; капсуларните EPS главно ја намалуваат синерезата	Surber et al. (2021)
Прато	EPS-продуцирачка LAB култура	Зголемен принос и содржина на влага без влијание врз pH, протеолиза, способност за топење и сензорна прифатливост	Coelho Nepomuceno et al. (2016)
Моцарела	<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> ZW3 (висок EPS-продуцент)	Подобрени физичко-хемиски својства, особено цврстината и цвакливоста	Rehman et al. (2018)
Рекесон (сирење од кисела сурутка)	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> ( <i>in situ</i> продукција на EPS)	Подобрен производствен принос и реолошки својства (цврстина, еластичност, адхезивност)	Carrero-Puentes et al., 2021

Многу EPS се отпорни на хидролиза во горниот дел од гастроинтестиналниот тракт и достигнуваат до дебелото црево, каде што можат да делуваат како пребиотички супстрати, селективно стимулирајќи корисни цревни микроорганизми како *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* spp., и поттикнувајќи ја продукцијата на кратковерижни масни киселини, особено бутират и пропионат (Bibi et al., 2021; Liang et al., 2024).

Дополнително, EPS од LAB се поврзуваат со широк спектар на биолошки активности, вклучувајќи имуномодулаторни, антиоксидантни, антиинфламаторни, хиполипидемични, хипогликемични ефекти, како и со модулација на цревната функција и со подобрување на биорасположливоста на нутриентите.

Иако голем дел од овие ефекти се потврдени преку *in vitro* и животински модели, ограничен број клинички студии кај луѓе исто укажуваат на ефектите на диететските влакна, односно имуномодулација и метаболички придобивки од EPS (Hernández-Figueroa et al., 2025). Преглед на главните здравствени ефекти поврзани со EPS продуцирани од LAB е прикажан на сликата бр. 2 (Hernández-Figueroa et al., 2025).



Слика бр. 2: Главни здравствени придобивки кај луѓето поврзани со егзополисахаридите произведени од млечнокисели бактерии (приспособено од Hernández-Figueroa et al., 2025)

#### 1.4.4. Производство на биогени амини

Биогените амини се соединенија со мала молекулска тежина кои содржат азот и се класифицираат како ароматични, алифатични или хетероциклични според нивната хемиска структура (Barbieri et al., 2019). Хистамин, тирамин, путресцин и кадаверин, главно се произведуваат преку микробна активност, во споредба со спермин и спермидин кои природно се присутни во храната (Ekici & Omer, 2020; Wójcik et al., 2021). Нивната акумулација честопати е поврзана со расипување на храната и со несоодветни хигиенски практики, поради што нивото на ВА претставува вреден индикатор за микробиолошки квалитет и за безбедност на храната (Tabanelli, 2020). Иако траги од ВА се неопходни за нормални метаболички и физиолошки функции,

прекумерен внес може да предизвика токсични ефекти како главоболка, гадење и хипертензија, при што сериозноста зависи од индивидуалната чувствителност (табела 10) (EFSA, 2011; Özogul & Özogul, 2019).

Производството на биогени амини главно се случува преку микробната декарбоксилација на слободни аминокиселини, иако и аминирањето и трансаминирањето алдехиди и кетони можат да придонесат (Zhai et al., 2012). Врз синтезата на ВА влијаат повеќе фактори, вклучувајќи го составот на храната (на пример, типот и концентрацијата на слободни аминокиселини), микробниот профил (на пример, присуството на бактерии позитивни на декарбоксилаза) и условите на околината за време на преработката или ферментацијата, кои можат да создадат поволни услови за раст на бактериите (EFSA, 2011).

Табела 10: Токсични ефекти од биогените амини кај луѓето (EFSA, 2011; Özogul & Özogul, 2019)

Биогени амини	Токсични ефекти кај луѓето
Хистамин	Главоболка, назална секреција, бронхоспазам, тахикардија, екстрасистоли, хипотензија, едем (очни капаци), уртикарија, пруритус, црвенило, астма, мигрена
Тирамин	Хипертензија, главоболка, потење, повраќање, дилатација на зениците
2-фенилетиламин	Хипертензија, главоболка, потење, повраќање, дилатација на зениците
Кадаверин	Хипотензија, брадикардија, пареза на екстремитетите и потенцирање на токсичноста на други амини, особено хистамин
Путресцин	Хипотензија, брадикардија, пареза на екстремитетите, како и потенцирање на токсичноста на други амини, особено хистамин

Широк спектар микроорганизми може да произведуваат ВА, вклучувајќи Грам-позитивни и Грам-негативни бактерии, како патогени, така и непатогени, како и квасци и мувла (Wójcik et al., 2021). Во ферментирана храна, главните продуценти на ВА се млечнокиселите бактерии, при што количеството на произведените амини честопати зависи од сојот, а не од видот (Barbieri et al., 2019). LAB користат декарбоксилациски патишта не само за отпорност на киселински стрес, туку и за генерирање енергија. Преку електроген транспорт и екструзија на протони, овие патишта создаваат протонска моторна сила, помагајќи во одржување на рН-балансот и поддржувајќи синтеза на АТР, што особено е важно бидејќи LAB немаат целосен респираторен синџир (Pessione, 2012). Киселите услови дополнително ја стимулираат транскрипцијата на декарбоксилазните гени, со што се зајакнува способноста на LAB да преживуваат и да дејствуваат во средини со ниска рН-вредност (Linares et al., 2011). Синтезата на поединечни биогени амини е контролирана од специфични генски кластери кои кодираат аминокиселински декарбоксилазни ензими. Формирањето хистамин е посредувано од генскиот кластер

*hdc*, кој кодира хистидин декарбоксилаза, додека продукцијата на тирамин е поврзана со *tdc* генскиот кластер што ја кодира тирозин декарбоксилазата. На сличен начин, генскиот кластер *odc* е одговорен за активноста на орнитин декарбоксилазата, што резултира со синтеза на путресцин, додека кадаверинот се продуцира преку дејството на лизин декарбоксилазата кодирана од генскиот кластер *ldc* (Linares et al., 2011).

Иако одредени млечнокисели бактерии имаат способност да произведуваат биогени амини, што претставува потенцијален безбедносен ризик, овие микроорганизми широко се користени во прехранбената индустрија како starter-култури и биопротективни култури поради нивните значајни технолошки придобивки. LAB играат важна улога во формирањето на сензорните својства, нутритивниот квалитет и во продолжувањето на рокот на траење на прехранбените производи (Aguirre-Garcia et al., 2024). Оттука, разбирањето на метаболичките патишта одговорни за синтеза и за разградба на ВА е клучно за унапредување на безбедната примена на LAB во прехранбените системи. Предложени се повеќе пристапи за ограничување на акумулацијата на ВА, вклучувајќи употреба на хемиски адитиви, нетермички технологии како обработка со висок притисок и озон, зрачење, како и насочен избор на starter-култури (Gardini et al., 2016). Последниот пристап подразбира спроведување сеопфатни процедури за селекција, вклучувајќи тестирање на антимикробна чувствителност и потврда за отсуство на активност на аминокиселински декарбоксилази (Abarquero et al., 2023).

Најновите истражувања укажуваат на ефикасни пристапи за ограничување на акумулацијата на биогени амини преку примена на соеви на млечнокисели бактерии кои поседуваат способност ензимски да ги трансформираат ВА во безопасни соединенија, како што се алдехиди, водород пероксид ( $H_2O_2$ ) и амонијак ( $NH_3$ ). Овој процес на детоксикација е посредуван од ензими што разградуваат амини, вклучувајќи аминоксидази, аминоксидрогенази и мултибакарни оксидази (Li & Lu, 2020). Дополнително, соеви кои продуцираат бактериоцини, како и нивните клеточно-слободни супернатанти, покажале потенцијал за инхибиција на продукцијата на ВА од патогени микроорганизми присутни во храната, што ја нагласува нивната улога како дополнителна биоконтролна стратегија (Purevdorj et al., 2021).

Иако продукцијата и разградбата на биогени амини кај млечнокиселите бактерии честопати се сметаат за карактеристики зависни од сојот, одредени истражувања укажуваат дека овие метаболички својства можат да бидат зачувани и на ниво на вид. На пример, повеќе студии покажале дека различни соеви на *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* и *Enterococcus durans* доследно продуцираат тирамин, независно од изворот на храната, што укажува на видово-специфична особина (Ladero et al., 2012). Оттука, може да се претпостави дека одредени соеви на LAB поседуваат истовремено капацитет и за синтеза и за разградба на ВА, во зависност од нивниот генетски состав и ензимски потенцијал. Напредокот во технологиите за секвенционирање со висок проток овозможи детална идентификација и карактеризација на аминокиселинските декарбоксилази и други метаболички ензими кај различни соеви на LAB. Систематското мапирање на овие ензими помеѓу соевите, без оглед на нивната способност за продукција или за деградација на ВА, може да обезбеди значајни сознанија за нивната генетска разновидност и за нивниот функционален потенцијал. Иако некои прегледни

трудови ја разгледуваат улогата на LAB во формирањето на ВА (Linares et al., 2011; Barbieri et al., 2019), а други нивната способност за намалување на акумулацијата на ВА (Li & Lu, 2020), сè уште недостасува сеопфатен пристап кој ги опфаќа двата процеса на ниво на сој и на вид.

Оваа генетска основа на формирањето биогените амини ја нагласува потребата од строга контрола и од селекција на млечнокиселите бактерии во прехранбените ферментации за намалување на потенцијалните здравствени ризици поврзани со прекумерен внес на ВА.

#### 1.4.5. Антимикробна активност

Болестите предизвикани од храна и од организмите што ја расипуваат храната и понатаму имаат негативно влијание врз јавното здравје и врз прехранбената индустрија. Во Европската Унија, најчестите причини за инфекции поврзани со храна се следниве бактерии: *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* и *Staphylococcus aureus*, како и вирусни патогени, како норовирусите и ротавирусите (Zimmerman et al., 2021). Интересно, повеќето групи на храна, како јајца, месо, млечни производи, овошје, зеленчук, морска храна и месо од живина, се поврзани со појава на болести предизвикани од храна (Ibrahim et al., 2021).

Во таа смисла, употребата на млечнокисели бактерии особено е значајна, бидејќи тие се ценети по нивната антимикробна активност против интестинални и патогени кои потекнуваат од храна, што претставува клучна карактеристика при изборот на соеви. Тие имаат антагонистички ефекти кои ги таргетираат габите, како и Грам-позитивни и Грам-негативни бактерии, што ги прави важни за ферментацијата, конзервирањето и за складирањето на храната (Ibrahim et al., 2021). Антимикробните својства на соевите на LAB се посредувани од антимикробните молекули произведени од овие соеви. Овие антимикробни средства може да се поделат во три примарни групи: (а) пептидни или протеински бактериоцини; (б) органски киселини; (в) други мали молекули, на пример, диацетил, водород пероксид, ацеталдеhid, ацетоин, реутерин и реутерициклин (Sieuwerts et al., 2018).

Бактериоцините се биоактивни пептиди синтетизирани на рибозомален начин од бактерии кои прикажуваат антимикробна активност против сродни бактерии (со тесен спектар) или несродни бактерии (со широк спектар) (Arqués et al., 2015). Овие пептиди се сметаат за природни биоконзерванси, а нивната потенцијална примена во прехранбената индустрија предизвикува голем интерес. Бактериоцините се активни против Грам-позитивни патогени, како *L. monocytogenes* и *Staph. aureus*, и можат да бидат ефикасни против Грам-негативни бактерии ако надворешната мембрана е дестабилизирана (Stevens et al., 1991). Бактериоцините произведени *in situ* преку внесување соеви кои ги произведуваат како стартери или помошни култури во ферментирани млечни производи можат да се применат за подобрување на безбедноста на производот. Бактериоцилот нисин, произведен од *Lactococcus lactis* и генерално признат како безбеден (GRAS), беше првиот антимикробен пептид опишан кај млечнокиселите бактерии. Нисин и педиоцин PA1 се користат во биоконзервацијата, а препарати од овие бактериоцини се применуваат и комерцијално. Во млечни производи

веќе се користат неколку бактериоцини за контрола на патогени. На пример, лактицин 3147, педиоцин, нисин и ентероцин CRL35 се ефикасни против *L. monocytogenes* во урда, чедар, камембер и во козјо сирење, додека педиоцин и нисин се користат и против *Staph. aureus* во полутврди сирења (Arqués et al., 2015).

Во ферментираниите млечни производи, млечната киселина е примарна органска киселина, која се создава преку метаболизмот на лактозата од млечнокиселите бактерии. Во зависност од соевите на LAB и од нивните ферментациски патишта, можат да бидат присутни и други киселини, како оцетна и мравја киселина, особено кај хетероферментативните LAB (Ayivi et al., 2020). LAB можат да бидат хомоферментативни, при што главно продуцираат млечна киселина преку патеката на EMP (на пр., *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*), или хетероферментативни, кои продуцираат млечна киселина, оцетна киселина, етанол и CO<sub>2</sub> преку фосфокетоллазната патека (на пр., *Lentilactobacillus buchneri*, *Levilactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum*). Факултативните хетероферментативни видови, како *Lactobacillus plantarum*, можат да преминуваат помеѓу овие патеки во зависност од рН, присуството на кислород, типот на шеќери и генетската предиспозиција, што им обезбедува метаболичка флексибилност (Ahansaz et al., 2023).

Органските киселини произведени од LAB имаат клучна улога во конзервирањето, безбедноста и во сензорните својства на храната. Оцетната киселина покажува изразена антифунгална активност преку намалување на внатрешклеточната рН-вредност и преку нарушување на мембранскиот интегритет на габите, додека фениллактичната киселина, млечната, мравјата и пропионската киселина дополнително придонесуваат кон антифунгалниот ефект (Leyva Salas, et al., 2017). Синергистичките интеракции, како онаа помеѓу оцетната и млечната киселина, ја зголемуваат антимикробната ефикасност (Dagnas et al., 2015). Овие киселини не само што ги инхибираат расипувачките и патогените микроорганизми, туку влијаат и врз вкусот и врз текстурата; нивната прекумерна продукција може да доведе до прекумерна киселост и до нежелни промени во текстурата и во вкусот на сирењето (Ahansaz et al., 2023).

Покрај органските киселини, млечнокиселите бактерии продуцираат и други нискомолекуларни соединенија со изразена антимикробна активност, како што се диацетил, водороден пероксид (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) и реутерин. Диацетилот делува инхибиторно врз Грам-позитивни и врз Грам-негативни бактерии, при што неговото антимикробно дејство се должи на реакцијата на дикарбонилната група со аргинин во клучните ензими, што резултира со нивна инактивација и со нарушување на каталитичката функција (Ibrahim et al., 2021). Под аеробни услови, LAB синтетизираат H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> во отсуство на каталаза, псеудокаталаза или на пероксидаза. Ова соединение има бактериостатско дејство, кое дополнително се засилува во комбинација со термичка обработка. Во сурово млеко, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> го активира лактопероксидазно-тиоцијанатниот систем, при што се формира хипотиоцијанитен анјон способен да ги оксидира SH-групите на мембранските протеини кај Грам-негативните бактерии, доведувајќи до нарушување на нивната клеточна функција (Lin et al., 2002).

Реутеринот, синтетизиран од одредени соеви на *Lactobacillus reuteri*, покажува широк спектар на дејство против Грам-позитивни и Грам-негативни бактерии. Неговиот

механизам вклучува инактивација на есенцијални ензими, како што е рибонуклеотид редуктаза, а соединението се одликува со стабилност во широк pH-опсег и со отпорност на протеолитички и липолитички ензими во прехранбени матрици (Asare et al., 2020).

Изолирањето и тестирањето млечнокисели бактерии за антимикробна активност е клучно за откривање соеви кои природно го инхибираат растот на патогени и расипувачки микроорганизми и за нивна употреба како стартер или помошна култура за подобрување на ферментацијата и за зголемување на безбедноста и трајноста на храната.

### 1.5. Број и разновидност на млечнокисели бактерии во козјо млеко и во традиционално козјо сирење

Млечните производи, особено оние добиени од сурово млеко, содржат богата и комплексна микробиота составена од корисни, но и од потенцијално штетни микроорганизми. Најзначајна група меѓу корисните бактерии се млечнокиселите бактерии што не потекнуваат од додадени стартни култури (Non-Starter Lactic Acid Bacteria, NSLAB) (Bluma et al., 2017). Овие микроорганизми ја движат природната ферментација во млечните производи и се во фокусот на бројни студии поради нивниот потенцијал како природни биоконзерванси во прехранбената индустрија (Asteri et al., 2010). NSLAB опфаќаат широк спектар родови и се користат како пробиотици со долга и докажана историја на безбедна примена (Landete, 2017). Истражувањата покажуваат дека тие поседуваат силна инхибиторна активност против патогени микроорганизми и бактерии што доведуваат до расипување на храната (Nero et al., 2008). Бактериите што произведуваат бактериоцини, меѓу кои *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* и *Streptococcus*, природно се присутни во микробиотата на козјото млеко (Psoni et al., 2007; Colombo et al., 2010). Во ферментираниите млечни производи, најчесто изолирани родови на млечнокисели бактерии се *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* и *Streptococcus* (Pessione, 2012).

Сирењата произведени од сурово млеко, зреат побрзо и развиваат поинтензивен и покомплексен вкус во споредба со пастеризираниите или микрофилтрираниите сирења поради нивната разновидна микробиота (Bachmann et al., 2011; Mrkonjić Fuka et al., 2013). Наспроти тоа, пастеризираниите сирења резултираат со помалку изразен вкус затоа што термичкиот третман на млекото го намалува бројот на одржливи микроорганизми и на придружните ензими, вклучувајќи одредени протеази и липази (Jo et al., 2018; Tomasino et al., 2018). Анализата на разновидноста на млечнокиселите бактерии во суровото козјо млеко и во традиционалните козји сирења произведени без термичка обработка и без додавање стартер-култури претставува клучен чекор кон разбирање на нивната улога во процесите на ферментација, развојот на вкусот и во природното зачувување на производот (Montel et al., 2014).

Во табелата 11 е прикажан бројот на млечнокисели бактерии во сурово козјо млеко и во традиционалните сирења произведени без додавање стартер-култури, кој покажува значителни варијации меѓу различните студии. Во примероците од сурово козјо млеко, бројот на ЛАВ најчесто се движи од приближно 3 до 8 log cfu/mL (Perin & Nero, 2014; Bonilla-Luque et al., 2023), што укажува на постоење богата и активна автохтона микрофлора. Слични вредности се забележани и од Пизано и соработниците (Pisano et

al., 2019), кои пријавуваат опсег од  $10^4$  до  $10^7$  cfu/mL или 4-7 log cfu mL<sup>-1</sup> (по конверзија во логаритамска форма) во сурово млеко, мали разлики кои може да се должат на разлики во регионот, условите на молзење и складирање, како и на применетите методи за култивирање (Quigley et al., 2013).

Во традиционалните сирења произведени од сурово козјо млеко, бројот на LAB е повисок и најчесто надминува 8 log cfu/g (Pappa et al., 2022; Bonilla-Luque et al., 2023), што е очекувано поради активното размножување на овие бактерии за време на зреењето (de Oliveira et al., 2025). И Грујовиќ и соработниците (Grujović et al., 2024) потврдуваат висока застапеност на LAB во ваквите производи, што е клучно за развој на посакувани сензорни својства и за стабилноста на производот (Settanni & Moschetti, 2010).

Табела 11: Број на млечнокисели бактерии во сурово козјо млеко и сирење

Вид на примерок и производство	Број на LAB	Подлога	Референција
Сурово козјо млеко	3,07 - 3,89 log cfu/ml	КАА, M17, MRS агар	Perin & Nero (2014)
Сурово козјо млеко и сирење од сурово млеко (занаемско производство)	Млеко: 4,99 - 8,59 log cfu/ml Сирење: 8,11 - 9,57 log cfu/g	MRS агар	Bonilla-Luque et al. (2023)
Сурово козјо млеко (Сардинија)	$10^4$ - $10^7$ cfu/mL (4 - 7 log cfu mL <sup>-1</sup> )	M17, MRS, KF агар	Pisano et al. (2019)
Сурово козјо млеко и традиционално козјо сирење од сурово млеко (без стартер-култури)	Млеко: $9,6 \times 10^2$ - $2 \times 10^3$ (2,98 - 3,30 log cfu mL <sup>-1</sup> ) Сирење: $5,6 \times 10^3$ - $1,13 \times 10^{12}$ (3,75 - 12,05 log cfu g <sup>-1</sup> )	M17, MRS, BEA агар	Grujović et al. (2024)
Сирење од сурово козјо млеко (без стартер-култури)	> 8,5 log cfu/g	КАА, M17, MRS агар	Pappa et al. (2022)

Овие наоди ја нагласуваат важноста на автохтоните LAB во традиционалното производство на сирења, каде што нивната природна присутност обезбедува карактеристичен микробиолошки и ароматичен профил без потреба од комерцијални стартер-култури (Settanni & Moschetti, 2010; Montel et al., 2014).

### 1.5.1. Разновидност на млечнокисели бактерии во сурово козјо млеко

Природно богатата хранлива композиција на козјото млеко овозможува одлична средина за развој на микроорганизми. Поради неговата висока хранлива вредност и поради присуството на различни млечнокисели бактерии кои продуцираат бактерицини, автохтоната микробиота во суровото козјо млеко претставува посебен интерес (Ortolani et al., 2010; Ranadheera et al., 2018). Истражувањата покажале дека бактерии со познати пробиотски и бактерицино-генски својства, како што се видовите *Lactobacillus*,

*Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* и *Streptococcus*, се клучни компоненти на микробиотата во козјото млеко (Raoult, 2009; Perin et al., 2012). Во табелата 12 е прикажана разновидноста на млечнокиселите бактерии во сурово козјо млеко, податоците се обезбедени на основа на литературен преглед на резултати од научни трудови, при што податоците се изразени во проценти од вкупниот број изолати.

Подетално, Гесас и Кихал (Guessas & Kihal, 2004) изолирале 206 изолати на млечнокисели бактерии од сурово козјо млеко, од кои 115 припаѓале на коки, при што 76,16 % биле идентификувани како *Lactococcus* sp., 14,78 % како *Streptococcus thermophilus* и 8,6 % како *Leuconostoc* sp. Од коките, *L. lactis* subsp. *lactis* била идентификувана како доминантен вид. Другиот дел од изолатите припаѓале на родот *Lactobacillus*, при што *Lactobacillus curvatus* (базоним: *Lactobacillus curvatus*) бил доминантен вид со 25,25 % од вкупниот број изолати од *Lactobacillus*.

Во студијата на Бадис и соработниците (Badis et al., 2004a) биле изолирани 158 изолати на млечнокисели бактерии од сурово козјо млеко и биле идентификувани како: *Lactobacillus* (50,63 %), *Lactococcus* (25,94 %), *Streptococcus* (14,56 %), *Leuconostoc* (7,59 %) и *Pediococcus* (1,26 %). Доминантни видови биле *L. lactis* (32 изолати), *Streptococcus thermophilus* (23 изолати), *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (базоним: *Lb. bulgaricus*) (19 изолати), *Lb. helveticus* (16 изолати) и *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* (базоним: *Lb. plantarum*) (14 изолати).

Табела 12: Разновидност на млечнокисели бактерии во сурово козјо млеко

Млечнокисели бактерии	Guessas & Kihal (2004) <b>206</b> <u>ИЗОЛАТИ</u>	Badis et al. (2004a) <b>158</b> <u>ИЗОЛАТИ</u>	Badis et al. (2004b) <b>725</b> <u>ИЗОЛАТИ</u>	Cheriguene et al. (2006) <b>120</b> <u>ИЗОЛАТИ</u>	Pisano et al. (2019) <b>289</b> <u>ИЗОЛАТИ</u>
<i>Lactobacillus</i>	44,17	50,63	31,6	37,33	32,52
<i>Lactococcus</i>	76,6	25,94	28,4	25,33	29,41
<i>Streptococcus</i>	14,78*	14,56	13,7	2,66*	2,42
<i>Leuconostoc</i>	8,6	7,59	22,2	/	4,84
<i>Enterococcus</i>	/	/	/	34,66	23,53
<i>Pediococcus</i>	/	1,26	4,1	/	7,26

\**Streptococcus. thermophilus*

/Неидентификувано

Бадис и соработниците (Badis et al., 2004b) изолирале 725 млечнокисели бактерии од сурово козјо млеко на четири раси кози, кои биле фенотипски класифицирани како *Lactobacillus* (31,6 %), *Lactococcus* (28,4 %), *Leuconostoc* (22,2 %), *Streptococcus* (13,7 %) и *Pediococcus* (4,1 %), а најзастапени видови биле *Streptococcus thermophilus* (46 изолати), *Lactobacillus helveticus* (45 изолати), *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* (базоним: *Lactobacillus plantarum*) (30 изолати), *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (26 изолати), *Levilactobacillus brevis* (базоним: *Lactobacillus brevis*) (25 изолати) и *L. lactis* subsp. *lactis* (25 изолати). Шериген и соработниците (Cheriguene et al., 2006) анализираше млечнокисели бактерии присутни во сурово козјо млеко и изолирале 120 изолати кои биле идентификувани како: *Lactobacillus* (37,33 %), *Enterococcus* (34,66

%), *Lactococcus* (25,33 %) и *Streptococcus thermophilus* (2,66 %). *L. lactis* subsp. *lactis* бил најчест вид од родот *Lactococcus* со 18,66 %, додека од изолатите на *Enterococcus* дваесет и пет биле идентификувани како *E. faecium*, а другите 7,33 % како *E. durans*. Други идентификувани видови вклучувале *Lacticaseibacillus rhamnosus* (базоним: *Lb. rhamnosus*) (10,66 %), *Lactiplantibacillus pentosus* (базоним: *Lb. pentosus*) (9,33 %), *Lacticaseibacillus paracasei* subsp. *paracasei* (базоним: *Lb. paracasei* subsp. *paracasei*) (8 %), *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* (базоним: *Lb. plantarum*) (5,33 %) и *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (4 %).

Писано и соработниците (Pisano et al., 2019) изолирале 289 млечнокисели бактерии од сурово козјо млеко, при што 32,52 % биле идентификувани како *Lactobacillus*, 23,53 % како *Enterococcus*, 29,41 % припаѓале на родот *Lactococcus*, 8,30 % на *Pediococcus*, 7 % на *Streptococcus* и 4,84 % на *Leuconostoc*. Доминантните видови идентификувани од родот *Lactococcus* биле *L. lactis* subsp. *lactis*, од родот *Lactobacillus*, *Lacticaseibacillus paracasei* (базоним: *Lb. paracasei*), додека кај *Enterococcus* доминантен вид била *E. faecium*, проследено со *E. faecalis*. Жанг и соработниците (Zhang et al., 2017) анализираше бактериска разновидност во примероци козјо млеко од две раси кози саниен и гуанжонг. Од вкупната бактериска разновидност, тие идентификувале и пробиотски бактерии, кои вклучувале: *Lactococcus* (0,67 %), *Lactobacillus* (0,45 %), *Bifidobacterium* (0,24 %), *Enterococcus* (0,18 %), *Weissella* (0,0076 %) и *Pediococcus* (0,0028 %).

Разликите во застапеноста на *Lactococcus* (25,33-76,6 %), како и варијациите во другите родови млечнокисели бактерии, можат да ја одразуваат различната методологија на истражувањата, но недостатокот на детални информации за расите на козите, исхраната, сезонските варијации и за регионалните фармерски практики во прегледаните трудови дополнително го комплицира директното споредување. Врз доминацијата на одреден вид млечнокисели бактерии влијаат повеќе фактори, како што се средината на млечната фарма, системите за молзење и исхраната на животните (Gagnon et al., 2020; Zakirul Islam et al., 2021).

### 1.5.2. Разновидност на млечнокисели бактерии во традиционално козјо сирење

Сирењата од сурово млеко, поради нивното микробно оптоварување, имаат пократок период на зреење и поинтензивен вкус отколку сирењата од пастеризирано млеко (O'Sullivan & Cotter, 2017; Ozturkoglu-Budak & de Vries, 2017). Покрај тоа, пастеризацијата предизвикува промени како денатурација на протеините на сурутка, инактивација на липазите и има мал ефект врз витамините (IDF, 2022), што, пак, ги модифицира биохемијата и микробиологијата на киселеењето на млекото и зреењето на сирењето (Silva et al., 2023a). Во табелата 13 се прикажани податоците за разновидноста на млечнокиселите бактерии во козјо сирење добиени од различни истражувања, при што податоците се изразени во проценти од вкупниот број изолати.

Кај две традиционални шпански козји сирења произведени од сурово млеко, без употреба на стартер-култури, најзастапен вид од родот *Lactococcus* бил *L. lactis* со 41,9 % во Quesaila Arochena (тврдо сирење) и 26,4 % во Torta Arochena (меко сирење). Од родот *Lactobacillus*, најзастапени видови по *L. lactis* биле *Lacticaseibacillus paracasei* (базоним: *Lb. paracasei*) и *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* (базоним: *Lb.*

*plantarum*) со 38,2 % во Quesailla Arochena и 14,6 % во Torta Arochena. *Enterococcus* бил присутен со 6,7% во Quesailla Arochena и 20,01% во Torta Arochena, додека и соеви на *Leuconostoc* биле присутни во различни нивоа (7,8% во Quesailla Arochena и 0,002% во Torta Arochena) (Martín-Platero et al., 2009a).

Пикон и соработниците (Picon et al., 2016) ги проучувале динамиката и биодиверзитетот на млечнокиселите бактерии во козји сирења од две шпански провинции (Кадиз и Малага) за време на 60 дена период на зреење. Авторите пријавиле намалување на популацијата на *Lactococcus* во двата типа сирење од првиот до шесеттиот ден (од 98,2 % на 42 % во сирењето од регионот Кадиз и од 98,0 % на 31,5 % во сирењето од регионот Малага, од вкупниот број LAB). Напротив, забележале зголемување на популациите на другите млечнокисели бактерии. Конкретно, популацијата на *Lactobacillus* се зголемила од 0,05 % на 48,1 % во сирењето од Кадиз и од 0,04 % на 57,9 % во сирењето од Малага. Кај *Leuconostoc* било забележано зголемување од 0,7 % на 8,1 % во сирењето од Кадиз и од 1,5 % на 9,0 % во сирењето од Малага. Дополнително, *Enterococcus* се зголемил од 1,1 % на 1,7 % во сирењето од Кадиз и од 0,6 % на 1,7 % во сирењето од Малага.

Табела 13: Разновидност на млечнокисели бактерии во козјо сирење

Млечнокисели бактерии	Martín-Platero et al. (2009a)# <u>160 / 120</u> изолати		Picon et al. (2016) <u>176 / 172</u> изолати Кадиз / Малага пролет		Picon et al. (2016) <u>179 / 180</u> изолати Кадиз / Малага есен		Silva et al. (2023b) <u>232</u> <u>изолати</u>
<i>Lactobacillus</i>	38,2	14,6	27,84	37,79	27,93	37,77	2,5
<i>Lactococcus</i>	41,9*	26,4*	29,5	4,65	17,32	12,22	35
<i>Leuconostoc</i>	7,8	0,002	16,48	33,72	29,61	29,44	27,5
<i>Enterococcus</i>	6,7	20,01	25,57	21,51	25,70	20	15
<i>Lacticaseibacillus</i>	/	/	/	/	/	0,55	17,5
<i>Loigolactobacillus</i>	/	/	/	/	/	/	2,5
<i>Carnobacterium</i>	/	/	0,57	2,32	/	/	/

\**L. lactis*

/Неидентификувани

#лева страна – резултати за тврдо сирење, десна страна – резултати за меко сирење

Силва и соработниците (Silva et al., 2023b) пријавиле дека од вкупно 232 изолати од традиционално козјо сирење произведено од сурово млеко, 35 % припаѓале на родот *Lactococcus*, 27,5 % на *Leuconostoc*, 17,5 % на *Lacticaseibacillus*, 15 % на *Enterococcus*, а по 2,5 % на родовите *Loigolactobacillus* и *Lactobacillus*. *Leuconostoc mesenteroides* бил најзастапениот микроорганизам во примероците во оваа студија (27,5 %), проследен со *L. lactis* (25 %), *Lacticaseibacillus paracasei* (17,5 %), *E. faecalis* (15 %), *L. cremoris* (10 %) и *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* (базоним: *Lb. plantarum*) и *Loigolactobacillus coryniformis* (по 2,5 % секој).

Во друга студија, од вкупно 238 изолати на млечнокисели бактерии изолирани од традиционално козјо сирење направено од сурово млеко и без стартер-култури, 37,3 % припаѓале на *L. lactis* subsp. *lactis*, 20,5 % на *E. faecalis*, 19,3 % на *Lacticaseibacillus*

*paracasei*, 13,4 % на *Lactiplantibacillus plantarum*, 5,4 % на *E. faecium* и 3,7 % на *E. hirae* (Grujović et al., 2024).

Додека *Enterococcus* придонесува за протеолиза, соеви кои носат гени на вирулентност (на пр., *gelE*, *asa1*) претставуваат безбедносен ризик, поради што е неопходно скринирање на ниво на сој (Hanchi et al., 2018).

Типот и квалитетот на млекото, условите на производство, географската локација и околините услови имаат значително влијание врз присуството на микробната популација во овие производи (Reuben et al., 2023; Giagnoni et al., 2023; Nelli et al., 2023), што може да ги објасни разликите во погоре наведените студии.

## 2. ПРЕДМЕТ И ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО

Предмет на ова истражување е традиционално произведеното бело саламурено козјо сирење, добиено без топлотен третман на млекото и без додавање стартер-култури. Истражувањето се фокусира на улогата на автохтоната микрофлора, особено млечнокиселите бактерии, во процесите на ферментација и зреење, како и на нивното влијание врз карактеристичните физичко-хемиски, микробиолошки и сензорни својства на сирењето.

Истражувањето опфати два сезонски циклуса (пролетен и есенски) за да се утврди влијанието на сезоната и на производните услови врз микробната динамика и врз квалитетот на сирењето. Примероци се земаат од сурово козјо млеко, саламура, сирење во различни фази на зреење, алатки и во различна производна околина за да се следат потеклото и развојот на микробиолошката заедница.

Посебен акцент се става на карактеризацијата на изолираните LAB, нивната технолошка, биопротективна и безбедносна значајност, како и на нивниот потенцијал за примена во производството на традиционални ферментирани млечни производи.

### 2.1. Цели на истражувањето

Главната цел на ова истражување е да се изврши сеопфатно проучување на микробиолошкиот, физичко-хемискиот и на сензорниот профил на традиционално произведеното бело саламурено козјо сирење, со посебен акцент на карактеризацијата на автохтоните млечнокисели бактерии (LAB) и процена на нивната технолошка и безбедносна значајност.

Истражувањето има за цел да обезбеди сеопфатно разбирање на микробната динамика во различните фази на производството и на зреењето, како и да идентификува потенцијални функционални изолати на LAB со можност за примена во ферментирани млечни производи.

Дополнително, во рамките на ова истражување се прави анализа на ставовите и перцепциите на потрошувачите кон млечни производи од козјо млеко за да се добие поширок увид во нивната прифатливост и во нивниот пазарен потенцијал.

### 2.2. Хипотези на истражувањето

Работната хипотеза на ова истражување е дека автохтоните млечнокисели бактерии во традиционалното бело саламурено козјо сирење играат клучна улога во дефинирањето на неговите својства. Конкретно, се претпоставува следново:

1. Разновидност на бактерии: Автохтоните млечнокисели бактерии присутни во суровото козјо млеко и во сирењето значајно се разликуваат во зависност од сезоната и од производствените услови. Оваа разновидност влијае врз конечниот квалитет на сирењето.
2. Влијание на микроорганизмите: Се очекува дека специфични видови млечнокисели бактерии имаат позитивно влијание врз својствата на сирењето преку својата ферментатиска активност и преку производството на различни метаболити.

3. Процес на ферментација: Процесот на ферментација, воден од автохтони млечнокисели бактерии, резултира во соодветна продукција на екстрацелуларни полисахариди и ензими, што дополнително се очекува да придонесе за уникатноста на производот.
4. Безбедност на храната: Утврдување присуство на соодветни микроорганизми и детекција на патогени бактерии помога во оценувањето на безбедноста на производот, а автохтоните млечнокисели бактерии може да покажат антимицробна активност против потенцијалните патогени.

Овие хипотези беа тестирани преку систематско собирање и преку анализа на податоци во текот на производството и зреењето на сирењето, што ќе овозможи детекција на важни микробни групи и процена на нивните улоги во квалитетот на производот.

### 3. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ

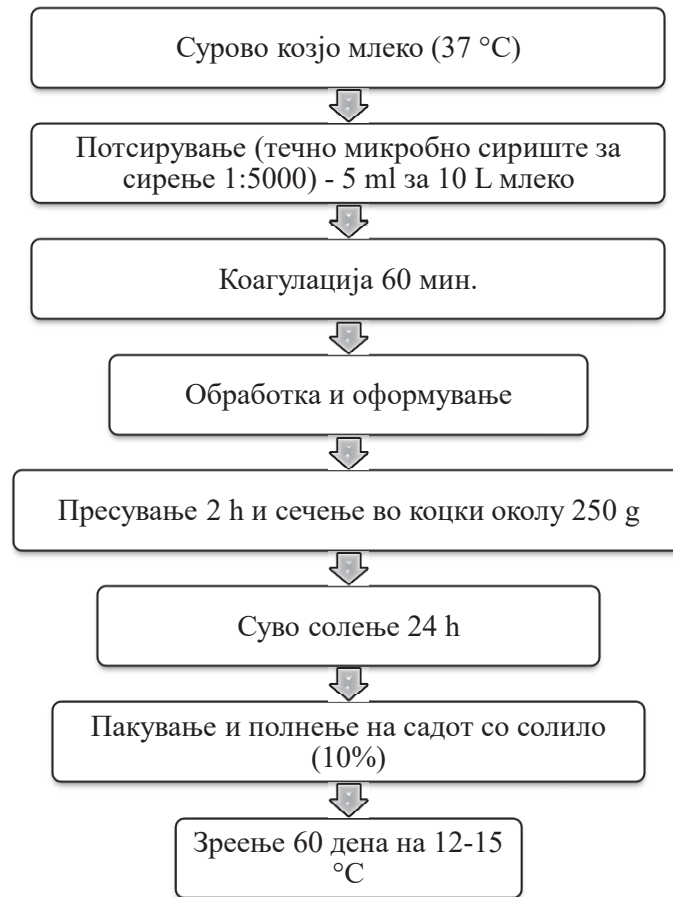
#### 3.1. Материјали

Во ова истражување е користено сурово млеко од мешани раси на кози, добиено во мала фарма во село Селце, Тетово, Северна Македонија (слика бр. 3). Производството на белото саламурено козјо сирење е направено во традиционални услови од сурово козјо млеко без топлотен третман и без додавање стартер-култури во две сезони – пролет и есен, а произведени се две серии од секоја сезона. Примероците сирење се анализирани во три временски периоди, и тоа: веднаш по производството (ден 0), на 30. ден и на 60. ден. Примероци се земени и од животната средина и од алатките за производство на сирење.



Слика бр. 3: Стадо кози во фармата каде што е произведено сирењето (извор: архива на авторот)

Шематски приказ на процесот на производство на традиционалното козјо сирење анализирано во оваа студија е прикажан на сликата бр. 4. Производството започнува со сурово козјо млеко, кое веднаш по молзењето, на температура од околу 37 °C, се подложува на коагулација со додавање течно микробно сириште за сирење (1:5000) во количина од 5 ml на 10 L млеко. Коагулацијата се одвива во тек на 60 минути. По формирањето на коагулумот следи негова обработка и негово оформување. Добиената маса се пресува околу 2 часа, се сече на коцки со маса од приближно 250 g, а потоа следи суво солење, при што со прсти се нанесува сол на површината на калапите и се остава да стои во период од 24 часа. По солењето, сирењето се пакува и се полни во сад со 10 % саламура, по што следи зрење во период од 60 дена на температура од 12–15 °C.



Слика бр. 4: Шематски приказ на процесот на производство на сирење



Слика бр. 5: Изглед на произведеното бело саламурено козјо сирење (извор: архива на авторот)

### 3.2. Методи

Лабораториските анализи се вршени во лабораториите на:

- Технолошко-техничкиот факултет Велес, Универзитет „Св. Климент Охридски“ – Битола, Северна Македонија
- Оддел за земјоделски, прехранбени и еколошки науки, Политехнички универзитет во Марке (Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali, Universita Politecnica delle Marche), Анкона, Италија
- Оддел за земјоделски, шумарски и прехранбени науки, Универзитет во Торино (Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Universita di Torino), Торино, Италија
- Факултет за прехранбена технологија и исхрана, Универзитет во Тетово, Тетово, Северна Македонија
- Оддел за биотехнологија и анализа на храна, Универзитет за економија и бизнис во Вроцлав (Department of Biotechnology and Food Analysis, Wroclaw University of Economics and Business), Полска.

Хемиските, метагеномските и анализите на испарливи соединенија беа спроведени на Одделот за земјоделски, прехранбени и еколошки науки при Политехничкиот универзитет на Марке. Дополнително, морфо-текстуралните анализи беа реализирани на Одделот за земјоделски, прехранбени и еколошки науки при Политехничкиот универзитет на Марке, во соработка со Одделот за биотехнологија и анализа на храна при Универзитетот за економија и бизнис во Вроцлав, Полска.

Во истражувањето анализираниите параметри беа добиени со примена на следниве методи:

- **pH-вредност** – определена според методот опишан од Рампанти и соработниците (Rampranti et al., 2023), со помош на pH-метарот Hanna Instruments модел 300 (Падова, Италија).
- **Вкупна (титрациона) киселост, ТТА** – според методот опишан од Рампанти и соработниците (Rampranti et al., 2023), при што 10 g примерок беа хомогенизирани со 90 mL дестилирана вода, титриран до pH-вредност 8,3 со 0,1 N раствор на NaOH. Процентот (%) на ТТА изразен како еквиваленти на млечна киселина беше пресметан според следнава формула:

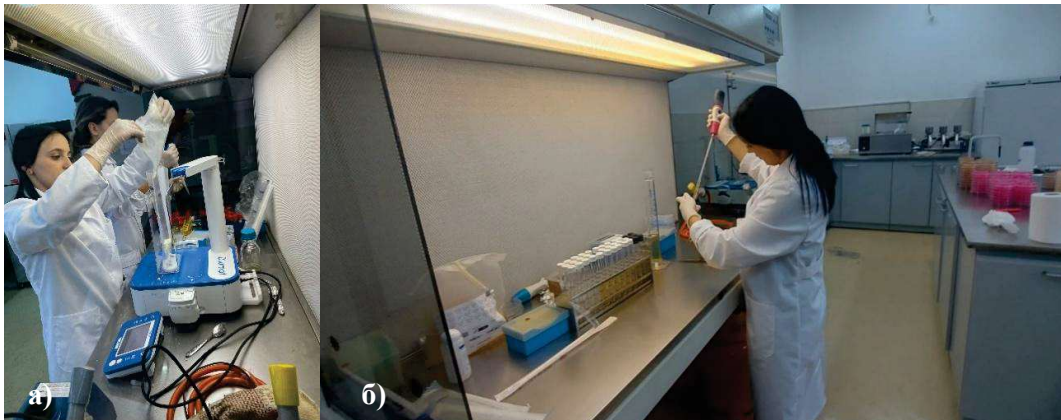
$$\text{ТТА} = \frac{\text{волумен на титрант} \times \text{N} \times 90}{\text{маса на примерок} \times 1000} \times 100$$

каде што N е нормалноста на титрантот, а 90 е еквивалентната маса на млечната киселина.

- **Активност на вода (a<sub>w</sub>)** – е измерена со апарат AwTherm (Rotronic, Басерсдорф, Швајцарија), на ~ 5 g паста од рендано сирење ставена во држачот за примероци на инструментот.
- **Концентрација на сол (NaCl)** – со салинометер (LAQUAtwin salt-22, HORIBA, Ltd., Кјото, Јапонија).

- **Протеини** – вкупниот азот беше определен со методот Кјелдал и конвертиран во суров протеин врз основа на сува маса со користење фактор на конверзија од 6,25 (Dimitrellou et al., 2010).  
За физичко-хемиските параметри примероците беа анализирани во трипликат, а резултатите се прикажани како средна вредност  $\pm$  стандардна девијација.
- **Параметри на боја** – се одредуваа со помош на Konica Minolta CR-310 chroma meter (Ремзи, Њу Џерси, САД). Атрибутите на бојата беа изразени како параметри на  $L^*$ ,  $a^*$ , и  $b^*$ .
- **Текстура на сирење** – текстурата се определуваше на цилиндрични примероци со помош на анализатор на текстура СТ3-4500 (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Мидлборо, Масачусетс, САД) со оптоварена ќелија од 4500 g. Цилиндрична сонда со дијаметар од 36 mm (мод. ТА-ААСС36) се користеше и работеше со брзина од  $1,5 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ , применувајќи недеструктивна деформација од 40 % како што е опишано од Кардинали и соработниците (Cardinali et al., 2024a).
- **Испарливи соединенија** – профилот на испарливи материи на сирењата беше оценет со микроекстракција на цврста фаза (HS-SPME) во комбинација со GC-MS (GC Clarus 600, MS Clarus 600 S, Perkin Elmer, Милано, Италија), опишано од Кардинали и соработниците (Cardinali et al., 2025). Два грама од примерокот беа измерени во ампули од 15 mL затворени со силиконски/PTFE капачиња. Испарливите органски соединенија (VOCs) беа екстрахирани 40 минути на  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  со употреба на влакна дивинилбензен/карбоксен/полидиметилсилоксан (DVB/CAR/PDMS, дебелина на филм од  $50/30 \text{ }\mu\text{m}$ ). Екстрахираните испарливи материи беа десорбирани во инјекцискиот отвор на GC во текот на 10 минути на  $240 \text{ }^\circ\text{C}$  во режим без разделување. За одвојување на анализите беше употребена колона обложена со полиетилен гликол (TG-WAXMS; Thermo Fisher Scientific,  $30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm}$ , дебелина на филм од  $0,25 \text{ }\mu\text{m}$ ). Хроматографските услови беа следниве: температурата на печката се одржуваше на  $35 \text{ }^\circ\text{C}$  во текот на 4 минути, се зголемуваше на  $120 \text{ }^\circ\text{C}$  на  $2,5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ , потоа на  $240 \text{ }^\circ\text{C}$  на  $15 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$  и се одржуваше 3,60 минути. Хелиум беше користен како носач на гас со брзина од  $1,2 \text{ mL min}^{-1}$ . Масените спектри беа добиени со јонизација на електрони на  $70 \text{ eV}$  и беа детектирани во режим на целосно скенирање во опсег од 30 до  $400 \text{ m z}^{-1}$ . Податоците беа добиени со софтверот TurboMass верзија 6.1.2. Масените спектри и линеарните индекси на задржување пресметани на алканите со прав ланец C7-C30 и споредени со оние објавени во базата на податоци на NIST, беа користени за идентификација на VOCs. Сите определувања беа извршени во дупликат, а резултатите беа изразени како релативни проценти од вкупно откриените испарливи соединенија.
- **Броење на живи колонии** – 10 g од секој примерок беа хомогенизирани со 90 mL стерилна пептонска вода ( $1 \text{ g L}^{-1}$ ) во стомахер апарат (400 Circulator, International PBI, Милано, Италија), 2 минути на 260 вртежи во минута. Хомогенатите на сурово млеко

и на сирење беа разредувани со стерилна пептонска вода за подготовка на серија разредувања.

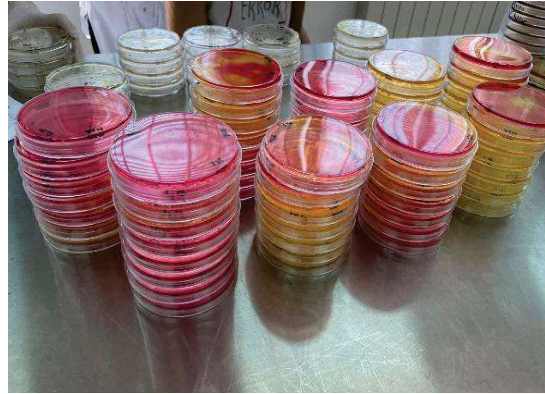


Слика бр. 6: а) Подготовка на примерок сирење за анализа, б) Разредување на примероци (извор: архива на авторот)

Делови од децималните разредувања беа инокулирани на погоден медиум за раст за да се определи бројот на микроорганизми во следниве микробни групи:

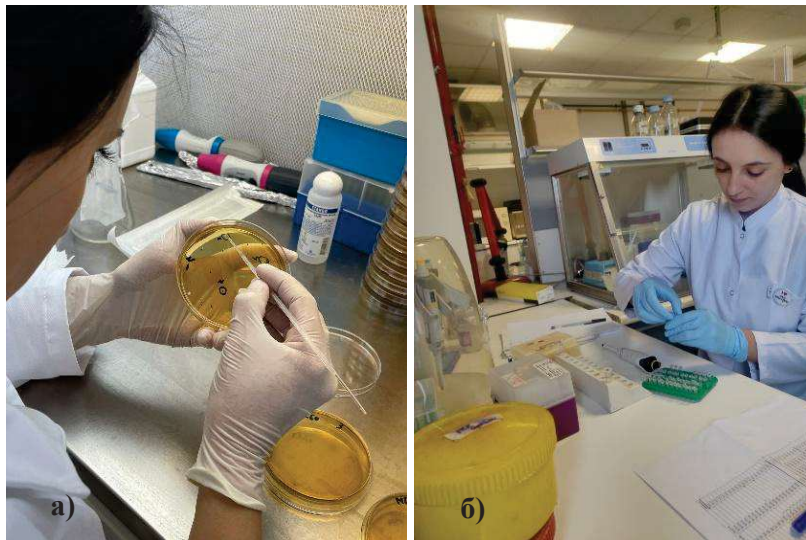
- I. Вкупни мезофилни аероби – на Plate Count Agar (PCA) со инкубација на 30 °C за 72 часа;
- II. Претпоставени мезофилни лактобацили – на Де Ман, Рогоса, Шарп (MRS) агар со инкубација на 30 °C за 72 часа;
- III. Претпоставени мезофилни лактококи – на M17 агар со инкубација 30 °C за 72 часа;
- IV. Enterobacteriaceae – на агар REBECCA со инкубација на 37 °C за 24 часа;
- V. *Escherichia coli* – на агар REBECCA со инкубација на 37°C за 24 часа;
- VI. Коагулаза позитивни стафилококи – на Mannitol Salt Agar со додаван фибриноген од зајачка плазма на 37 °C за 48 часа;
- VII. Коагулаза негативни стафилококи – на Mannitol Salt Agar 37°C за 48 часа;
- VIII. Стафилококен ентеротоксин – според стандардот ISO 19020:2017 за имуноензимско откривање стафилококни ентеротоксини во прехранбените производи;
- IX. Детекција на *Salmonella* spp. – според стандардот UNI EN ISO 6579-1:2020;
- X. Детекција на *Listeria monocytogenes* – според стандардот UNI EN ISO 11290-1:2017;
- XI. Квасци – на агар WL Differential со додаден хлорамфеникол (0,1 g L<sup>-1</sup>) со инкубација на 25°C за 5 дена;
- XII. Мувли – на агар Rose Bengal (RB) со додаден хлорамфеникол (0,1 g L<sup>-1</sup>) со инкубација на 25°C за 72 часа.

Броевите на живи микроорганизми се прикажани како средни вредности на log cfu mL<sup>-1</sup> или log cfu g<sup>-1</sup> примерок.



Слика бр. 7: Раст на колони од различни бактерии (извор: архива на авторот)

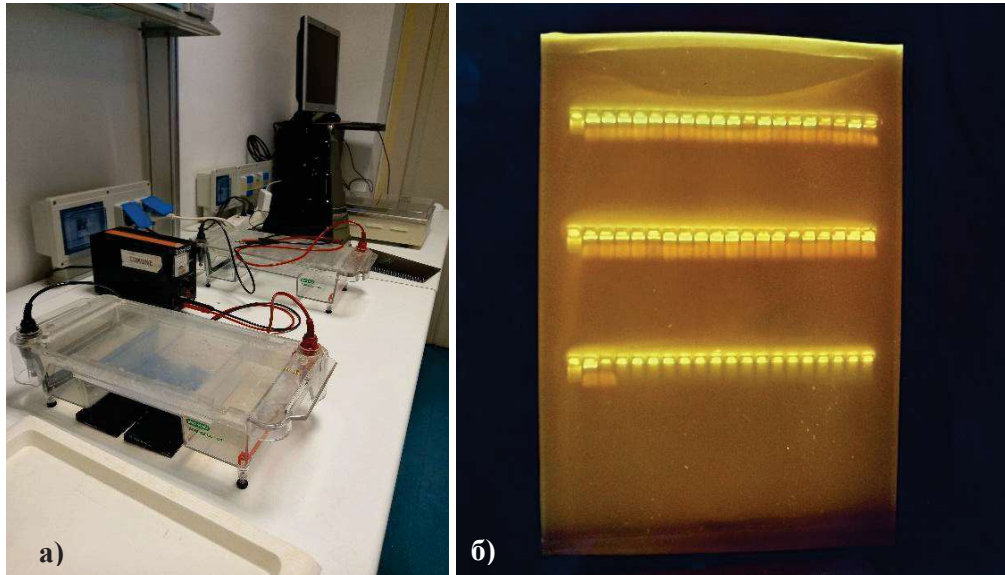
- **Изолација и карактеризација на млечнокисели бактерии** – Првично прочистените бактериите се криоконзервираа, потоа ДНК беше естрахирана според Осимани и соработниците (Osimani et al., 2015).



Слика бр. 8: а) Изолација на LAB, б) Подготовка на екстрактите на ДНК за амплификација во PCR (извор: архива на авторот)

Концентрацијата и квалитетот на ДНК се анализираа користејќи спектрофотометар NanoDrop ND 1000 приспособена на  $100 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ . По PCR-амплификацијата, примероците беа анализирани со агарозна гел електрофореза според Осимани и соработниците (Osimani et al., 2015). Ампликоните потоа беа испратени до Genewiz за прочистување и за секвенционирање.

Добиените секвенции се споредени со секвенции на типови соеви 16S rRNA од базата на ДНК на GenBank преку основната алатка за пребарување локално порамнување (BLAST).



Слика бр. 9: а) Уред за изведување агарозна гел електрофореза, б) Резултати од агарозна гел електрофореза под UV светлина (извор: архива на авторот)

- **Ензимска активност** – Ензимската активност на млечнокиселите бактерии е оценета со анализа на агар според Линарес-Моралес и соработниците (Linares-Morales et al., 2020) со некои модификации. Пред тестот, изолатите беа земени од замрзнатите суспензии и супкултивирани двапати на истиот медиум што се користеше за изолација. За секој изолат, 5  $\mu\text{L}$  од културата беа нанесени на следниов медиум: а) агар од обезмастено млеко (пептон 0,5 %, екстракт од слад 0,3 %, екстракт од квасец 0,3 %, гликоза 1 %, натриум хлорид 0,5 %, агар 0,2 %, обезмастено млеко 2 %) за евалуација на активност на протеаза; б) трибутирин агар (пептон 0,5 %, екстракт од квасец 0,3 %, агар 2 %, трибутирин 1 %) за оцена на активност на липаза. Присуството на јасен ореол околу инокулумот по инкубација на 30 °C во текот на 48 часа укажуваше на позитивен резултат, со нивоа на интензитет означени како + (1 mm), ++ (1-2 mm) и +++ (>2 mm).
- **In Vitro продукција на EPS** – За откривање на *in vitro* продукција на изолатите EPS е користен методот претходно опишан од Хилбиг и соработниците (Hilbig et al., 2020), со неколку приспособувања. Прво, изолатите беа земени од замрзнатите суспензии и супкултивирани двапати на 30 °C во текот на 48 часа. Потоа, 5  $\mu\text{L}$  од секоја бактериска култура беа нанесени на следниве медиуми: агар MRS додаден со сахароза со концентрација од 80  $\text{g L}^{-1}$  за да се поттикне синтезата на хомополисахариди (HoPS); агар MRS додаден со екстракт од квасец (10  $\text{g L}^{-1}$ ), екстракт од месо (10  $\text{g L}^{-1}$ ), лактоза (20  $\text{g L}^{-1}$ ) и галактоза (20  $\text{g L}^{-1}$ ) за да се поттикне синтезата на хетерополисахариди (HePS). По 48 часа инкубација на 30 °C, колониите беа класифицирани како позитивни ако покажуваа или рошава конзистенција

(способни да формираат филаменти) или мукоиден изглед (прикажувајќи видлива сјајна и кончеста текстура).

- **Детекција на ген *hdcA* на LAB G+** – Изолатите се тестирани за присуство на генот на хистидин декарбоксилаза (*hdcA*) преку qPCR изведена со помош на машина CFX Connect Real-Time System (BioRad, Херкулес, Калифорнија, САД), следејќи ги условите за циклус и прајмерите претходно опишани од Белеца и соработниците (Belleggia et al., 2021), за амплификација на фрагмент од 174 bp од генот *hdcA*. Позитивниот сој *Lactobacillus parabuchneri* DSM 5987 беше користен за креирање на стандардната крива. Резултатите беа изразени како присуство (+) или отсуство (-) на целиот ген во примероците од бактериска ДНК.
- **Антимикробна активност** – Антимикробната активност е оценувана преку методот на дифузија во агар со формирани бунарчиња (agar well diffusion assay) како што е претходно опишано од Кардинали и соработниците (Cardinali et al., 2024b). *Listeria innocua* беше инокулирана (2%, v v<sup>-1</sup>) во стопен мек агар Brain Heart Infusion (BHI) (0,75% агар). Потоа, 20 mL од инокулираниот медиум беа префрлени на Петриева плоча од 90 mm до зацврстување. Потоа со стерилен конус беа направени бунарчиња со капацитет од ~ 50 µL на мек агар BHI. Млечнокиселите бактерии што требаше да се тестираат беа култивирани двапати во бујон MRS на 37 °C во текот на 48 часа, а потоа, беше спроведена неутрализација со раствор од 0,1 N NaOH за да се постигне pH 7,0 односно за да се неутрализираат органските киселини произведени за време на растот на бактериите. беше спроведена и филтрација на стерилен мембрански филтер PES со големина на порите од 0,22 µm. За секој изолат, беа формирани 4 бунарчиња на мек агар BHI, кои беа наполнети со: (i) 50 µL супкултивираната суспензија; (ii) 50 µL неутрализираната суспензија приспособена на pH 7,0; (iii) 50 µL филтрираната неутрализирана суспензија; (iv) 50 µL стерилизирана вода како негативна контрола. Последователно, Петриевите плочи беа инкубирани на 37 °C 24 часа и беа проверени за присуство на зони на инхибиција.
- **Метатаксономска анализа** – Пелетите од клетки беа добиени со центрифугирање на примероци од млеко (1,5 mL) и на хомогенати од сирење (10<sup>-1</sup> разредување), според Рампанти и соработниците (Rampanti et al., 2024). Геномската ДНК беше екстрахирана со Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit (Zymo Research), а концентрацијата беше измерена со флуориметар Qubit 4.0.

Бактериската заедница беше профилирана со амплификација на регионите V3-V4 на генот 16S rRNA, користејќи валидирани прајмери (Klindworth et al., 2013). Ампликонските библиотеки беа подготвени според работниот протокол Illumina 16S и секвенционирани на платформата Illumina MiSeq со читања paired-end (2×250 bp).

Суровите читања на секвенции FASTQ беа обработени со QIIME2, потоа беа отсечени прајмери и адаптери; беа филтрирани и прочистени со алгоритам DADA2 (Callahan et al., 2016) за добивање варијанти на ампликон секвенции (ASVs –

Amplicon sequence variants). Таксономската анотација беше извршена со базата SILVA. Сите податоци се депонирани во NCBI SRA (PRJNA1321184).

Табелите ASVs беа анализирани во MicrobiomeAnalyst за еколошки и статистички анализи. Алфа-диверзитетот (Chao1, Shannon, Simpson) беше спореден помеѓу пролетни и есенски примероци со тестот Wilcoxon. Бета-диверзитетот беше проценет со Bray-Curtis и визуализиран со PCoA, а разликите меѓу сезоните беа тестирани со PERMANOVA.

Анализата на диференцијална застапеност помеѓу групите П1, П2, Е1 и Е2 беше направена во R environment (v4.5.1) со тестот Kruskal-Wallis и со корекција FDR според процедурата на Benjamini-Hochberg. Вклучени беа само таксони присутни во најмалку два примерока и со релативна застапеност  $\geq 0.5\%$ . Визуализацијата беше изработена со ggplot2.

- **Сензорна анализа** – Сензорната анализа на произведеното бело саламурено козјо сирење беше спроведувана според TS 961:2006 опишано од Сезен Демирџи (Sezen Demirci, 2012), со мали модификации. 10 панелисти ги оценија сирењата за изглед (оценка до 20), конзистенција (до 35), мирис (до 30) и вкус (до 20), со вкупна оценка 105 (табела 14).

Табела 14: Методологија на сензорна евалуација

Изглед	Оценки
„Неискршен“ калап со карактеристичен светло-бел, хомоген и мазен призматичен изглед	20
Мат, бледо бела боја	15
Неколку шуплини на површината на попречниот пресек	15
Нерамномерна распределба на боја	10
Појава на мувла и формирање пукнатини	10
Неправилен призматичен изглед, „искршен“ калап	10
Многу шуплини на површината на пресекот	5
„Искршен“ калап	5
<b>Тело и текстура</b>	
Уреден, мазен, беспрекорен, хомоген пресек, не премногу тврд или мек	35
Пресек со флеку, сува тврда текстура, лизгава текстура	25
„Песочна“ текстура	20
Формирани пукнатини, еластична текстура, мека и влажна текстура	10
Дисперзивна текстура, „растопена“ текстура	5
<b>Мирис</b>	
Свој карактеристичен мирис	10
Мирис на квасец	10
Мирис на кисело	5
Мирис на животни, мирис на добиточна храна	5
Мирис на мувли	5
<b>Вкус</b>	

Свој карактеристичен вкус	35
Вкус на квасец	25
Кисел вкус, сладок вкус, благ вкус	10
Солен вкус	10
Метален вкус, горчлив вкус	5

Испитувањето беше спроведено на двете серии сирења од двете сезони и од двете технички реплики. Пред почетокот на сензорното оценување на секој панелист му беа објаснети постапката за оценување и начинот на дегустација. Примероците од сирење беа претставени по случаен редослед и им беа доделени шифри, за да останат примероците анонимни за панелистите. На панелистите им беа обезбедени леб и чаша вода помеѓу примероците за плакнење на устата.

- **Анкета на потрошувачи за нивните ставови кон козјото млеко и кон козјите млечни производи** – Податоците во истражувањето беа обезбедени преку примена на инструмент – прашалник, изготвен врз основа на прашалници употребени во две студии за процена на ставот на потрошувачите за производите од козјо млеко, и тоа: прашалникот развиен од Варгас-Бело-Перес и соработниците (Vargas-Bello-Pérez et al., 2022), кои ги истражуваа преференциите на потрошувачите низ Латинска Америка (Мексико и Чиле), Европа (Италија, Шпанија, Грција и Данска) и Азија (Бангладеш) и прашалникот подготвен од Паскаш и соработниците (Paskaš et al., 2020), фокусиран на потрошувачите во Војводина, Србија. Прашањата беа адаптирани за да се усогласи прашалникот со специфичните цели на оваа студија. Прашалникот вклучуваше прашања структурирани во три дела:

1. социодемографски податоци, кои ги опфаќаа полот, возраста, регионот и местото на живеење, образовното ниво и статусот на вработеност;
2. потрошувачки навики, кои се однесуваа на консумацијата, видовите производи што ги користат, зачестеноста на консумација, местото на купување, интересот за хранливи вредности и на причините за неконсумација;
3. општи перцепции за производите од козјо млеко, кои ги опфаќаа ставовите и карактеристиките поврзани со овие производи, изворите на информации, подготвеноста за плаќање повисока цена за одредени алтернативи, перцепцијата за нивната здравствена вредност, причините за тоа, како и преференциите за видот на млеко за сирење.

Анкетата беше насочена кон жителите на Северна Македонија на возраст од 18 години и постари. Прашалникот беше дистрибуиран онлајн, преку веб-страница и преку е-пошта во период од еден месец, овозможувајќи широко учество на различни возрастни групи, региони, полови и професионални средини.

- **Статистичка анализа** – Статистички анализи на микробиолошките, физичко-хемиските параметри, параметрите на бојата и на текстурата беа спроведени за да се проценат разликите меѓу примероците со користење на JMP софтверската верзија 11.0.0. Применета е еднонасочна анализа на варијансата (ANOVA), а споредби на

средните вредности беа извршени со тестот за значајна разлика на Tukey-Kramer (HSD) на ниво на значајност од 5 %.

За статистичката анализа на VOCs, онлајн-софтверот Metaboanalyst v 6.0 беше употребен за да се спроведе анализа на парцијални најмали квадрати-дискриминаторски (PLS-DA) и топлинска карта за хиерархиско кластерирање.

ANOVA со повторени мерења беше користена за анализа на сензорските податоци за испитување на главните ефекти на сезоната и серијата/денот, како и на нивната интеракција врз оценките на сензорските карактеристики. Анализата беше изведена во SPSS, верзија 16.0, при ниво на значајност  $\alpha = 0,05$ .

Податоците од анкетата беа обработени и анализирани во Microsoft Excel и во SPSS Statistics 16.0. Притоа, беа применети дескриптивни статистики (фреквенции и проценти), а зависностите помеѓу демографските карактеристики, консумацијата и не консумацијата на козји млечни производи беа испитани со Chi-square test ( $\chi^2$ ) при ниво на значајност  $p < 0,05$ . Прашањата со повеќе можни одговори беа анализирани како повеќекратни одговори, при што графички беа прикажани само одговорите со застапеност над 5 %.

## 4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

### 4.1. Физичко-хемиски анализи

Физичко-хемиската анализа на сирењето за време на зреењето претставува суштински инструмент за разбирање на трансформациите што се одвиваат во текот на овој сложен процес. Зреењето опфаќа координирани биохемиски, микробиолошки и структурни промени кои постепено го обликуваат финалниот квалитет и ја осигуруваат безбедноста на производот. Параметрите како рН-вредност, содржина на влага, сол, протеини и активност на вода обезбедуваат квантитативна основа за следење на овие промени и за објективна процена на текот на зреењето. Нивното систематско мерење овозможува подобро толкување на внатрешните механизми во матрицата на сирењето и одржување на стабилност и на конзистентност во производството (McSweeney, 2004; Fox et al., 2017a).

Промените кај овие показатели тесно се поврзани со реакциите што ги формираат вкусот, аромата и текстурата на сирењето. Интензитетот на протеолизата и на липолизата зависи од рН, достапноста на вода и од распределбата на солта, бидејќи овие фактори ги регулираат ензимската активност и интеракциите во матрицата (Sousa et al., 2001). Намалувањето на влагата и постепена деградација на протеинската мрежа доведуваат до реорганизација на микроструктурата, што се одразува врз цврстината, еластичноста, способноста за топење и врз сензорниот профил на сирењето (Walstra et al., 2005; Everett & Auty, 2008).

Од аспект на микробиолошката динамика, физичко-хемиските услови ја дефинираат селективноста на средината во која се развива микрофлората. Промените на рН-вредноста, солта во водната фаза и на активноста на водата директно влијаат врз растот и метаболичката активност на starter-културите и на млечнокиселите неstarter-бактерии, како и врз потенцијалниот развој на расипувачки или патогени микроорганизми (Beresford et al., 2001; Montel et al., 2014). Оваа интеракција особено е значајна кај сирења произведени од сурово млеко и кај производи со подолго зреење, каде што стабилноста на условите е клучна за безбедноста на производот. Воедно, измерените вредности служат како индикатори за степенот на зреење и овозможуваат оптимизација на времетраењето на процесот и споредливост помеѓу различни серии (McSweeney & Sousa, 2000; Pavia et al., 2000).

Физичко-хемиската анализа е неопходна и при примена на нови технологии или модифицирани формулации, како што се производство на сирења со намалена содржина на масти или употреба на култури кои продуцираат ектополисахариди. Овие анализи овозможуваат процена на нивното влијание врз приносот, задржувањето на влагата, текстурата и врз стабилноста на структурата за време на зреењето (Broadbent et al., 2001; Costa et al., 2010). Дополнително, многу видови сирење се дефинирани преку утврдени физичко-хемиски критериуми, како што се содржина на влага, масти во сува материја и концентрација на сол, што ја нагласува потребата од редовно следење за усогласеност со регулаторните барања и со спецификациите на производот (Walstra et al., 2005; Fox et al., 2017a).

Резултатите од физичко-хемиските анализи за млекото и за сирењето произведени во пролет и во есен се претставени во табелата 15 и во табелата 16.

Табела 15: Физичко-хемиски параметри на примероци од млеко и од сирење земени во различни периоди на зреење (t0, t30 дена, t60 дена) произведени во пролет

Параметар	Примерок	П1	П2	Вкупна средна вредност
pH	M	6,74 ± 0,01	6,68 ± 0,01	6,71 ± 0,03 <sup>a</sup>
	C_t0	6,47 ± 0,06	6,09 ± 0,07	6,28 ± 0,22 <sup>a</sup>
	C_t30	5,67 ± 0,01	5,20 ± 0,06	5,43 ± 0,28 <sup>a</sup>
	C_t60	5,35 ± 0,03	5,35 ± 0,02	5,35 ± 0,02 <sup>a</sup>
a <sub>w</sub>	M	0,99 ± 0,00	0,99 ± 0,00	0,99 ± 0,00 <sup>a</sup>
	C_t0	0,94 ± 0,00	0,96 ± 0,00	0,95 ± 0,01 <sup>a</sup>
	C_t30	0,94 ± 0,00	0,94 ± 0,00	0,94 ± 0,00 <sup>a</sup>
	C_t60	0,94 ± 0,00	0,94 ± 0,00	0,94 ± 0,00 <sup>a</sup>
NaCl (%)	M	н.а.	н.а.	н.а.
	C_t0	4,60 ± 0,01	4,60 ± 0,01	4,60 ± 0,01 <sup>b</sup>
	C_t30	2,82 ± 0,01	2,81 ± 0,01	2,81 ± 0,01 <sup>b</sup>
	C_t60	3,73 ± 0,06	2,97 ± 0,01	3,35 ± 0,44 <sup>b</sup>
Титрациона киселост (% еквиваленти на млечна киселина)	M	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,00	0,08 ± 0,01 <sup>a</sup>
	C_t0	0,10 ± 0,02	0,17 ± 0,01	0,14 ± 0,04 <sup>b</sup>
	C_t30	0,46 ± 0,06	0,90 ± 0,13	0,68 ± 0,27 <sup>b</sup>
	C_t60	0,92 ± 0,01	0,92 ± 0,10	0,92 ± 0,06 <sup>b</sup>
Сурови протеини (%)	M	н.а.	н.а.	н.а.
	C_t0	19,52 ± 0,13	18,79 ± 0,21	19,15 ± 0,52 <sup>b</sup>
	C_t30	19,48 ± 0,06	20,51 ± 0,33	19,99 ± 0,73 <sup>a</sup>
	C_t60	18,41 ± 0,09	18,56 ± 0,04	18,48 ± 0,11 <sup>b</sup>

Вредностите се претставени како средни вредности ± стандардна девијација. Различните букви означуваат значајни разлики ( $p < 0,05$ ) помеѓу вкупните средни вредности на пролетните и на есенските примероци. Скратеници: П – пролет; 1 и 2 – производствени серии; М – млеко; С – сирење; t0, t30, t60 – фази на зреење (денови); н.а. – не е анализирано.

Мерењето на pH-вредноста во текот на производството и зреењето на сирењето се од суштинско значење за обезбедување на неговиот квалитет и на неговата безбедност. pH-вредноста има клучна улога за формирањето на текстурата и за вкусот на сирењето, бидејќи директно влијае врз степенот на хидратација на казеинот, активноста на ензимите вклучени во зреењето (како што се плазмин и химозин), како и врз метаболичката активност на SLAB и на NSLAB. Дополнително, pH-вредноста ги регулира активноста на аминокиселинските декарбоксилази и продукцијата на бактериоцини (Bansal & Veena, 2024). Општо земено, премногу ниска pH-вредност, односно прекумерна киселост, може да доведе до несакани промени во структурата на сирењето, како зрнеста текстура кај меките сирења и кршлива маса кај сувите тврди сирења, како и до појава на мувла за време на складирањето, во зависност од типот на

сирење. Од друга страна, повисоките рН-вредности (>5,6) можат да резултираат со ронлива структура и со неправилна текстура на коагулумот, што негативно се одразува на функционалните својства, како карактеристики на растегнување и топење на сирењето. Овие појави најчесто се поврзуваат со намалената растворливост на колоидниот калциум во коагулумот. Покрај тоа, зголемената рН-вредност може да претставува и ризик за безбедноста на храната (Johnson & Sommer, 2020).

Табела 16: Физичко-хемиски параметри на примероци од млеко и од сирење земени во различни периоди на зреење (t0, t30 дена, t60 дена) произведени во есен

Параметар	Примерок	Е1	Е2	Вкупна средна вредност
рН	М	6,58 ± 0,01	6,58 ± 0,01	6,58 ± 0,01 <sup>b</sup>
	С_t0	5,69 ± 0,24	5,83 ± 0,05	5,76 ± 0,16 <sup>b</sup>
	С_t30	4,73 ± 0,08	4,68 ± 0,11	4,70 ± 0,08 <sup>b</sup>
	С_t60	4,66 ± 0,05	4,58 ± 0,00	4,62 ± 0,05 <sup>b</sup>
a <sub>w</sub>	М	0,99 ± 0,00	0,99 ± 0,00	0,99 ± 0,00 <sup>a</sup>
	С_t0	0,92 ± 0,01	0,89 ± 0,00	0,90 ± 0,02 <sup>b</sup>
	С_t30	0,90 ± 0,01	0,91 ± 0,00	0,90 ± 0,01 <sup>b</sup>
	С_t60	0,87 ± 0,01	0,87 ± 0,01	0,87 ± 0,01 <sup>b</sup>
NaCl (%)	М	н.а.	н.а.	н.а.
	С_t0	6,25 ± 0,21	5,90 ± 0,14	6,08 ± 0,25 <sup>a</sup>
	С_t30	6,70 ± 0,42	7,25 ± 0,35	6,98 ± 0,45 <sup>a</sup>
	С_t60	6,90 ± 0,57	5,80 ± 0,14	6,35 ± 0,72 <sup>a</sup>
Титрациона киселост (% еквиваленти на млечна киселина)	М	0,13 ± 0,00	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,01 <sup>a</sup>
	С_t0	0,37 ± 0,05	0,37 ± 0,09	0,37 ± 0,05 <sup>a</sup>
	С_t30	1,51 ± 0,03	1,32 ± 0,04	1,42 ± 0,11 <sup>a</sup>
	С_t60	1,50 ± 0,04	1,73 ± 0,10	1,61 ± 0,15 <sup>a</sup>
Сурови протеини (%)	М	н.а.	н.а.	н.а.
	С_t0	20,64 ± 0,04	20,89 ± 0,32	20,77 ± 0,18 <sup>a</sup>
	С_t30	18,62 ± 0,12	18,53 ± 0,17	18,58 ± 0,07 <sup>a</sup>
	С_t60	22,21 ± 0,11	20,50 ± 0,10	21,35 ± 1,22 <sup>a</sup>

Вредностите се претставени како средни вредности ± стандардна девијација. Различните букви означуваат значајни разлики ( $p < 0,05$ ) помеѓу вкупните средни вредности на пролетните и на есенските примероци. Скратеници: Е – есен; 1 и 2 – производствени серии; М – млеко; С – сирење; t0, t30, t60 – фази на зреење (денови); н.а. – не е анализирано.

За време на производството на сирење, намалувањето на рН-вредноста го одразува закиселувањето на коагулумот посредувано од млечнокисели бактерии природно присутни во коагулумот и во производната средина. Забележано е постепено закиселување кај примероците од сирење произведени во пролет, за време на зреењето, при што рН-вредностите се намалуваат од 6,71 во млекото на 5,35 по 60 дена зреење. Спротивно на тоа, сирењата произведени во есен покажаа поизразен тренд на закиселување, при што рН-вредностите се намалуваат од 6,58 во млекото на 4,62 по 60

дена. Разликите помеѓу двата периода на производство беа статистички значајни, при што сирењата произведени во есен постојано покажуваа пониски рН-вредности во споредба со оние произведени во пролет ( $p < 0,05$ ). рН-вредностите откриени во примероците произведени во пролет беа слични со оние објавени од Пикон и соработниците (Picon et al., 2016) за сирење од сурово козјо млеко произведено без starter-култури во две провинции на Шпанија (Кадиз и Малага) во пролет, кои покажа рН-вредности од 5,11 и 5,09 по 60-тиот ден на зреење, соодветно. Спротивно на тоа, резултатите добиени од оваа студија се повисоки од оние објавени од Коцак и соработниците (Kosak et al., 2020) за бело саламурено козјо сирење произведено без starter-култури, кое покажа рН-вредности од 4,95, 4,79 и 4,72 по 1, 30 и 60 дена зреење, соодветно. Интересно е што вредностите објавени од Коцак и соработниците (Kosak et al., 2020) беа споредливи со оние забележани за примероците произведени во есен во оваа студија. рН-вредностите забележани тука беа во согласност со оние објавени од Кондили и соработниците (Kondyli et al., 2016) за истиот вид сирење, кое покажа просечна рН-вредност од 4,61 по 60 дена зреење.

Овие варијации во рН-вредноста може да се објаснат со разлики во технолошките услови на производство, како што е количината на сириште што се користи за коагулација (Tadjine et al., 2020), како и со зголемената протеолитичка активност на сирилото, која дополнително е изразена поради присуството и развојот на природната микрофлора на млекото (Cantor et al., 2004). Дополнително, сезонските варијации во однос на составот на млекото и на условите на производство можат значително да влијаат врз рН-вредноста на сирењето (Sánchez-Gamboa et al., 2018). Во оваа студија, разликите забележани помеѓу примероците произведени во различни сезони најверојатно ги одразуваат и отсуството на стандардизирани производствени процедури и примената на емпириски, занаетчиски методи на производство.

Земајќи ја предвид титрационата киселост, во примероците од млеко се забележани ниски вредности кои се движат од 0,08 % до 0,12 % еквиваленти на млечна киселина, без статистички значајни разлики забележани помеѓу двете испитувани сезони ( $p > 0,05$ ). Овие вредности беа малку пониски од оние што ги предложија Ванг и соработниците (Wang et al., 2025), потврдувајќи помеѓу 0,15 % и 0,17 % кога се изразени како млечна киселина. Спротивно на тоа, вредностите на титрациона киселост кај сирењето покажаа статистички значајни сезонски варијации, при што сирењата произведени во есен покажаа повисоки средни вредности без оглед на времетраењето на зреењето ( $p < 0,05$ ). Димитрова и соработниците (Dimitrova et al., 2021) имаат објавени вредности од 2,01-2,19 % изразени како проценти на млечна киселина во бело саламурено козјо сирење по 45 дена зреење, вредности повисоки од сирењето во оваа студија 0,92 % еквиваленти на млечна киселина во пролетното сирење по 60-тиот ден на зреење и 1,61 % еквиваленти на млечна киселина во есенското сирење. Пониските вредности во примероците можат да се припишат на разлики во составот на млекото, сезонски варијации, употреба на starter-култури или на условите на зреење, кои сите влијаат врз развојот на киселоста за време на зреењето на сирењето.

Овој тренд на зголемување на титрационата киселост и на намалување на рН-вредноста кај белите саламурени сирења, укажува на микробиолошка активност и на биохемиски трансформации поврзани со процесот на зреење (Makarijoski & Najdovski,

2025). Овие процеси ја промовираат протеолизата и играат клучна улога во развојот на вкусот и во зачувувањето на сирењето (Kholif & Kholif, 2025).

Активноста на вода ( $a_w$ ) е еден од најзначајните параметри во процесот на производство и на зреење на сирење, бидејќи има влијание врз различни својства на производот. Од физички аспект, таа придонесува за формирање на текстурата, односно на тоа дали сирењето ќе има мека и кремаста или поцврста и трошлива структура. Хемиски,  $a_w$  е во тесна зависност од количината на влага, додека на биохемиско ниво ги контролира активноста на ензимите и создавањето ароматични соединенија. Во микробиолошка смисла, активноста на вода ја одредува можноста за развој на микроорганизми, вклучувајќи ги корисните млечнокисели бактерии, но и расипувачките и патогените видови. Како резултат на тоа,  $a_w$  има директно влијание врз развојот на вкусот, квалитетот, стабилноста, рокот на траење и врз безбедноста на финалниот производ (Marcos, 1993). Во сирењето, водата постои во две форми: врзана вода, која е интегрирана во протеинската и масната матрица, и слободна вода, која е достапна за микробиолошка активност. Активноста на вода ја мери токму оваа слободна вода, претставувајќи го делот кој микроорганизмите можат да го користат за раст. Таа тесно е поврзана со притисокот на водена пареа во сирењето, што ја прави клучна за биохемиските и за микробиолошките процеси за време на зреењето (Hickey et al., 2013).

Поради присуството на различни растворени материи во сирењето, како што се соли, лактати и слободни аминокиселини, притисокот на водената пареа е понизок во споредба со чистата вода, што резултира со вредности на активноста на вода помали од 1,0 (Hickey et al., 2013). Јонските соединенија, особено NaCl, имаат изразена способност да ја намалат  $a_w$  преку интеракции со молекулите на водата, при што нивниот ефект е посилен во споредба со другите хидрофилни или хидрофобни соединенија (Marcos, 1993). Бидејќи сирењето претставува динамичен систем, за време на зреењето доаѓа до постепено намалување на содржината на вода поради дехидратација, како и до создавање нови растворливи материи како резултат на микробиолошките и биохемиските процеси (гликолиза, протеолиза и липолиза), кои дополнително влијаат врз промените на  $a_w$  (Hickey et al., 2013; Wemmenhove et al., 2016).

Кај примероците од сирење произведени во текот на пролетта забележано е мало намалување на  $a_w$ , достигнувајќи просечна вредност од 0,94 по 60 дена зреење. Спротивно на тоа, сирењата произведени во есен покажаа поизразено намалување, со просечна  $a_w$  од 0,87 во истата фаза. Статистички значајни разлики беа пронајдени помеѓу двата производствени периода, при што есенските примероци покажаа најниски вредности на  $a_w$  ( $p < 0,05$ ). Кај саламурените сирења,  $a_w$  е во голема мера под влијание на дифузијата на NaCl во коагулумот за време на саламурањето. Како што забележале Сантапаола и соработниците (Santapaola et al., 2013), солењето е клучен чекор во производството на сирење, кое влијае врз сензорните атрибути и ги контролира микробните и ензимските активности преку својот ефект врз  $a_w$ . Во согласност со ова, содржината на NaCl измерена во оваа студија тесно одговараше на трендовите на  $a_w$ , највисока кај примероците произведени во есен (6,35 % на 60 дена) и најниска кај оние произведени во пролет (3,35 % на 60 дена) ( $p < 0,05$ ). Оваа разлика веројатно се должи на варијациите поврзани со традиционалниот, нестандартен начин на обработка.

Содржината на сурови протеини кај сирењата произведени во пролет се намали од 19,15 % на денот на производство на 18,48 % по 60 дена зреење. Кај сирењата произведени во есен, вредностите на сурови протеини се движеа од 20,77 % на почетокот до 21,35 % по 60 дена зреење, при што содржината измерена кај есенските сирења беше статистички значително повисока во споредба со пролетните примероци ( $p < 0,05$ ). Вредностите забележани во примероците произведени во пролет беа во согласност со оние објавени од Кондили и соработниците (Kondyli et al., 2016) за бело саламурено козјо сирење (16,01 – 17,45 %). Спротивно на тоа, нивоата на протеини измерени во примероците произведени во есен се совпаѓаа со опсегот објавен од Ву и соработниците (Wu et al., 2025) за сирење од козјо млеко од типот хаолуми (20,83 – 22,02 %).

Благото намалување на содржината на сурови протеини за време на зреењето се должи на комбинација од биохемиски и физички процеси, пред сè протеолиза и миграција на растворливи азотни соединенија. Казеините се разградуваат под дејство на сирилните ензими, ендогените ензими од млекото и на ензимите од млечнокиселите бактерии, при што се формираат растворливи пептиди и слободни аминокиселини (McSweeney, 2004; Fox et al., 2017a).

Кај сирењата што зреат во саламура, дел од овие растворливи протеински фракции и азотни соединенија може да преминат во саламурата, што резултира со постепено намалување на измерената содржина на сурови протеини (Katsiari et al., 2000; McSweeney, 2004). Покрај тоа, методите за одредување сурови протеини се базираат на вкупниот азот, па промените во формата и во распределбата на азотните соединенија за време на зреењето влијаат врз добиените резултати.

Интензитетот на овие промени зависи од фактори како концентрација на сол, активност на вода ( $a_w$ ), температура и времетраење на зреењето, кои заедно ја регулираат брзината на протеолиза. Намалената  $a_w$  и зголемената концентрација на NaCl можат да ја ограничат ензимската активност, што доведува до умерени, но не драстични промени во содржината на сурови протеини за време на подолги периоди на зреење (Fox et al., 2017a).

## 4.2. Морфо-текстурална анализа

Бојата е еден од основните атрибути што потрошувачите го забележуваат кај сирењето и значително влијае врз нивните одлуки за купување. Таа служи и како индикатор за квалитет, честопати во корелација со фактори како што се вкус, хигиена и зрелост (Dufossé et al., 2005). Бојата на сирењето е резултат на сложена интеракција помеѓу повеќе фактори, при што клучна улога има составот на млекото, особено содржината и распределбата на масните глобули, казеинските мицели и присуството на природни пигменти, како што се каротеноидите. Дополнително, различните технолошки третмани на млекото, вклучувајќи термичка обработка, хомогенизација и употреба на starter-култури, значително влијаат врз оптичките својства и врз конечниот изглед на сирењето. И времето и техниките на зреење, технологијата на производство, како и активноста на природната млечна микрофлора, имаат значително влијание врз формирањето и врз стабилноста на бојата на сирењето (Khattab et al., 2019).

Исхраната на животните претставува уште еден клучен фактор што директно влијае врз бојата на сирењето, преку концентрацијата на  $\beta$ -каротен и на други пигменти во млекото. Сезонските промени во достапноста и во квалитетот на сточната храна значително ја менуваат содржината на овие соединенија; така, во есенскиот и зимскиот период, намалената застапеност и пониската хранлива вредност на свежата трева резултираат со пониски нивоа на  $\beta$ -каротен во млекото, што доведува до производство на сирења со побледа боја. Наспроти тоа, сирењата произведени во пролетниот и летниот период, кога исхраната е богата со свежа трева, се карактеризираат со поинтензивна и пожелтеникава боја (Shukri et al., 2022).

Резултатите од евалуацијата на бојата за сирењата произведени во пролет и во есен се претставени во табелата 17 и во табелата 18.

Табела 17: Параметри на боја на бело саламурено козјо сирење произведено во пролет во различни фази на зреење (t0, t30 и t60 дена)

Параметар	Фаза на зреење	П1	П2	Вкупна средна вредност
$L^*$	t0	86,37 ± 2,39	81,32 ± 2,75	83,85 ± 3,60 <sup>a</sup>
	t30	84,33 ± 0,98	86,70 ± 1,62	85,51 ± 1,77 <sup>a</sup>
	t60	83,20 ± 1,18	85,39 ± 2,70	84,30 ± 2,21 <sup>a</sup>
$a^*$	t0	-0,66 ± 0,09	-0,28 ± 0,09	-0,47 ± 0,22 <sup>a</sup>
	t30	-0,28 ± 0,05	-0,33 ± 0,17	-0,31 ± 0,11 <sup>a</sup>
	t60	-0,83 ± 0,10	-0,31 ± 0,17	-0,57 ± 0,31 <sup>a</sup>
$b^*$	t0	11,00 ± 0,07	11,13 ± 1,74	11,07 ± 1,10 <sup>b</sup>
	t30	10,72 ± 0,65	11,34 ± 0,16	11,03 ± 0,54 <sup>b</sup>
	t60	10,39 ± 0,23	10,54 ± 0,23	10,47 ± 0,22 <sup>a</sup>

Вредностите се претставени како средни вредности ± стандардна девијација. Различните букви означуваат значајни разлики ( $p < 0,05$ ) помеѓу вкупните средни вредности на пролетните и на есенските примероци. Скратеници: П – пролет; 1 и 2 – производствени серии; t0, t30, t60 – фази на зреење (денови).

Во однос на светлината ( $L^*$ ), која се движи од 0 (црна) до 100 (бела), слични вредности генерално се забележани кај примероците од сирење, без оглед на сезоната на производство. Сепак, по 60 дена зреење, просечната вредност на  $L^*$  кај сирењата произведени во есен (80,18 наспроти 84,30 кај сирењата произведени во пролет) беше значително пониска ( $p < 0,05$ ). Вредностите на  $L^*$  регистрирани на 60 дена беа во согласност со оние објавени од Павија и соработниците (Pavia et al., 2000) за сирење од типот манчего солено во саламура, кое покажа вредност на  $L^*$  од приближно 85 на крајот од зреењето. Вредностите на  $L^*$  добиени во оваа студија беа и во опсегот објавен од Буфа и соработниците (Buffa et al., 2001) за сирење од сурово козјо млеко солено во саламура, кое покажа вредност на  $L^*$  од ~91 по 60 дена зреење.

Во однос на параметарот  $a^*$  (црвенило), кој ја претставува оската на боја од зелена (негативна) до црвена (позитивна), забележани се статистички значајни разлики помеѓу примероците произведени во пролет и оние произведени во есен ( $p < 0,05$ ). Сепак, сите измерени вредности беа лоцирани на негативната страна од скалата, односно сирењето

произведено во пролет покажа вредности од -0,47 на првиот ден и -0,57 на 60-тиот ден на зреење, а сирењето произведено во есен покажа вредности од -1,33 и -0,45 на 60-тиот ден на зреење, што укажува на тенденција кон зелена боја. Забележаните вредности беа во согласност со оние објавени од Павија и соработниците (Pavia et al., 2000) за сирење од типот манчегото солено во саламура и од Буфа и соработниците (Buffa et al., 2001) за сирење од сурово козјо млеко солено во саламура, кое покажа зеленикави нијанси со вредност -1,08.

Табела 18: Параметри на боја на бело саламурено козјо сирење произведено во есен во различни фази на зреење (t0, t30 и t60 дена)

Параметар	Фаза на зреење	Е1	Е2	Вкупна средна вредност
<i>L</i> *	t0	82,86 ± 4,97	85,71 ± 1,69	84,29 ± 3,67 <sup>a</sup>
	t30	86,16 ± 2,22	82,07 ± 1,77	84,12 ± 2,87 <sup>a</sup>
	t60	81,05 ± 2,05	79,31 ± 3,08	80,18 ± 2,53 <sup>b</sup>
<i>a</i> *	t0	-1,20 ± 0,11	-1,45 ± 0,30	-1,33 ± 0,24 <sup>b</sup>
	t30	-1,74 ± 0,13	-1,72 ± 0,25	-1,73 ± 0,18 <sup>b</sup>
	t60	-0,52 ± 0,09	-0,39 ± 0,12	-0,45 ± 0,11 <sup>b</sup>
<i>b</i> *	t0	12,75 ± 0,41	13,64 ± 0,93	13,19 ± 0,81 <sup>a</sup>
	t30	12,68 ± 0,38	12,00 ± 0,53	12,34 ± 0,56 <sup>a</sup>
	t60	10,63 ± 1,15	10,81 ± 0,60	10,72 ± 0,82 <sup>a</sup>

Вредностите се претставени како средни вредности ± стандардна девијација. Различните букви означуваат значајни разлики ( $p < 0,05$ ) помеѓу вкупните средни вредности на пролетните и на есенските примероци. Скратеници: Е – есен; 1 и 2 – производствени серии. Временските ознаки ги означуваат примероците од сирење во различни фази на зреење.

Кај параметарот *b*\* (жолтило), кој ја претставува оската на сина (негативна) до жолта (позитивна) боја, забележани се статистички значајни разлики помеѓу сирењата произведени во пролет и оние произведени во есен во t0 и t30. Сепак, не се пронајдени значајни разлики помеѓу двете групи во t60 ( $p < 0,05$ ). Генерално, регистрираните вредности укажуваат на тенденција кон жолтеникави нијанси (приближно 10), што е во согласност со наодите на Павија и соработниците (Pavia et al., 2000) за сирење од типот манчегото солено во саламура и на Буфа и соработниците (Buffa et al., 2001) за сирење од сурово козјо млеко солено во саламура, кои пријавија позитивни вредности на *b*\* од околу 15 и 10, соодветно.

Промените во параметрите на бојата (*L*\*, *a*\*, *b*\*) за време на зреењето на сирењето главно се предизвикани од намалувањето на влажноста и од промените во рН-вредноста, кои ја модифицираат структурната матрица на сирењето и влијаат врз начинот на кој светлината се расејува и се апсорбира. Намалувањето влага со текот на времето директно корелира со промени во *L*\* и во жолтеникавоста (*b*\*) кај зрелите сирења, додека структурните промени поврзани со хидратација на протеините и со интеракциите со масните компоненти влијаат врз *a*\* вредностите. Овие опсервации се поддржани од претходни истражувања за влијанието на зреењето врз бојата и врз физичко-хемиските

параметри кај козјото и кај други сирења (Milovanovic et al., 2020; Álvarez & Fresno, 2021).

Текстурата на сирењето претставува едно од најзначајните сензорни својства, кое се дефинира како комплексен збир на дескриптивни термини што ја опишуваат перцепцијата на потрошувачот за време на процесот на мастикација (Foegeding & Drake, 2007). Ова својство е резултат на интеракцијата помеѓу структурните, физичките и хемиските карактеристики на сирењето и игра клучна улога за прифаќањето и за квалитетната оценка на производот. При инструменталната анализа на текстурата на сирењето, најчесто се применуваат основни механички тестови, при кои на примероци со строго дефинирана геометрија им се нанесуваат контролирани напрегања или деформации. Овие испитувања овозможуваат објективна процена на физичките и на реолошките својства на сирењето, како што се неговата отпорност на компресија, способноста за враќање во првобитната форма, внатрешната поврзаност на структурата и адхезијата кон контактните површини (Foegeding & Drake, 2007).

Во рамки на ова истражување, текстуралните параметри цврстина, кохезивност, еластичност и адхезивност беа одредени со примена на анализата на текстурен профил (Texture Profile Analysis – TPA), која претставува широко прифатен и репродуцибилен метод за симулација на процесот на мастикација. Овој метод овозможува добивање квантитативни податоци за механичкото однесување на сирењето при двојна компресија, што придонесува за подобро разбирање на врската помеѓу микроструктурата на производот и неговите сензорни својства.

Во табелите 19 и 20 се претставени резултатите на параметрите на текстура за сирењето произведено во пролет и во есен, соодветно.

Табела 19: Параметри на текстурата на примероци од сирење произведено во пролет земени во различни фази на зреење (t0, t30 и t60 дена)

Параметар	Фаза на зреење	П1	П2	Вкупна средна вредност
Цврстина [N]	t0	7,33 ± 0,05	7,43 ± 0,59	7,38 ± 0,34 <sup>b</sup>
	t30	13,59 ± 0,29	14,34 ± 3,07	13,97 ± 1,83 <sup>a</sup>
	t60	14,65 ± 1,50	11,96 ± 0,14	13,31 ± 1,78 <sup>a</sup>
Кохезивност	t0	0,87 ± 0,08	0,80 ± 0,07	0,83 ± 0,07 <sup>a</sup>
	t30	0,84 ± 0,01	0,79 ± 0,04	0,81 ± 0,04 <sup>a</sup>
	t60	0,84 ± 0,01	0,81 ± 0,01	0,83 ± 0,02 <sup>a</sup>
Еластичност	t0	2,25 ± 0,21	2,10 ± 0,57	2,18 ± 0,36 <sup>a</sup>
	t30	2,20 ± 0,00	2,00 ± 0,14	2,10 ± 0,14 <sup>b</sup>
	t60	2,10 ± 0,14	2,15 ± 0,07	2,13 ± 0,10 <sup>b</sup>
Адхезивност	t0	0,52 ± 0,18	1,34 ± 0,87	0,93 ± 0,70 <sup>a</sup>
	t30	0,58 ± 0,06	0,60 ± 0,05	0,59 ± 0,04 <sup>b</sup>
	t60	0,64 ± 0,03	0,62 ± 0,04	0,63 ± 0,03 <sup>a</sup>

Вредностите се прикажани како средна вредност ± стандардна девијација. Различни мали букви укажуваат на статистички значајни разлики ( $p < 0,05$ ) помеѓу вкупните средни вредности на примероците од пролет и од есен. Скратеници: П – пролет; 1 и 2 – производствени серии; t0, t30, t60 – фази на зреење (денови).

Цврстината претставува текстурален параметар што се дефинира како максималната сила регистрирана за време на првиот циклус на компресија при анализата на текстурен профил и ја одразува отпорноста на примерокот при почетниот залак (Foegeding & Drake, 2007). Меѓу анализираниите примероци не беа утврдени статистички значајни разлики во вредностите на цврстината ( $p < 0,05$ ), независно од сезоната на производство. Вредностите измерени по 60 дена на зреење се наоѓаа во опсегот на оние наведени во литературата за слични типови сирење. Поточно, добиените резултати беа споредливи со вредностите пријавени од Туркмен и Гулер (Türkmen & Güler, 2022) за саламурено турско бело сирење, кои изнесуваат приближно 10 N. Дополнително, измерената цврстина беше во согласност и со податоците објавени од Милорадовиќ и соработниците (Miloradovic et al., 2018) за козјо бело саламурено сирење во 6 % саламура, каде што исто така се регистрирани вредности околу 10 N. Кај сирењето, цврстината е комплексно својство кое зависи од повеќе фактори, вклучувајќи ги содржината на вода, условите и времетраењето на зреењето, како и применетиот метод на солење (на пример, суво солење или солење во саламура) и концентрацијата на сол. Овие фактори влијаат врз структурата и врз јачината на протеинската мрежа, што директно се одразува на механичката отпорност на сирењето.

Табела 20: Параметри на текстурата на примероци од сирење произведено во есен земени во различни фази на зреење (t0, t30 и t60 дена)

Параметар	Период на зреење	E1	E2	Вкупна средна вредност
Цврстина [N]	t0	11,01 ± 2,22	11,10 ± 3,23	11,06 ± 2,26 <sup>a</sup>
	t30	12,77 ± 3,95	15,60 ± 6,05	14,18 ± 4,48 <sup>a</sup>
	t60	23,83 ± 3,04	13,55 ± 1,64	18,69 ± 6,26 <sup>a</sup>
Кохезивност	t0	0,85 ± 0,02	0,83 ± 0,06	0,84 ± 0,04 <sup>a</sup>
	t30	0,73 ± 0,04	0,74 ± 0,06	0,73 ± 0,04 <sup>b</sup>
	t60	0,55 ± 0,02	0,69 ± 0,00	0,62 ± 0,08 <sup>b</sup>
Еластичност	t0	3,05 ± 0,64	2,70 ± 0,28	2,88 ± 0,45 <sup>a</sup>
	t30	3,20 ± 0,00	3,65 ± 0,07	3,43 ± 0,26 <sup>a</sup>
	t60	3,30 ± 0,14	3,05 ± 0,07	3,18 ± 0,17 <sup>a</sup>
Адхезивност	t0	0,48 ± 0,05	0,58 ± 0,12	0,53 ± 0,09 <sup>a</sup>
	t30	0,54 ± 0,04	0,52 ± 0,01	0,53 ± 0,02 <sup>a</sup>
	t60	0,70 ± 0,18	0,57 ± 0,04	0,64 ± 0,13 <sup>a</sup>

Вредностите се прикажани како средна вредност ± стандардна девијација. Различни мали букви укажуваат на статистички значајни разлики ( $p < 0,05$ ) помеѓу вкупните средни вредности на примероците од пролет и од есен. Скратеници: E – есен; 1 и 2 – производствени серии; t0, t30, t60 – фази на зреење (денови).

Како што е истакнато од Фегединг и Дрејк (Foegeding & Drake, 2007), цврстината на гел-структурата на сирењето има значајно влијание врз однесувањето при цваќање и врз придружните физиолошки реакции, кои играат важна улога во времето, интензитетот и во моделот на ослободување на вкусот. Ова дополнително ја нагласува важноста на цврстината како клучен параметар во сензорниот квалитет на сирењето.

Кохезивноста се однесува на способноста на производот да го задржи својот структурен интегритет при втората деформација во однос на првата. Од сензорна перспектива, таа го опишува степенот до кој примерокот од сирење останува недезинтегриран по пет цвакања (Foegeding & Drake, 2007). Во оваа студија беа забележани статистички значајни разлики помеѓу сирењата произведени во пролет (0,83) и оние произведени во есен (0,62) ( $p < 0,05$ ). Вредностите регистрирани кај примероците произведени во есен беа во согласност со оние објавени од Милорадовиќ и соработниците (Miloradovic et al., 2018) за козјо бело саламурено сирење, со вредности од приближно 0,6. Спротивно на тоа, кохезивноста на сирењата произведени во пролет беше значително повисока од вредностите наведени од Милорадовиќ и соработниците (Miloradovic et al., 2018), но во тесна согласност со резултатите прикажани од Туркмен и Гулер (Türkmen & Güler, 2022) за саламурено турско бело сирење, кои достигнуваат околу 0,80 по 60 дена зреење.

Еластичноста претставува текстурален параметар кој ја опишува способноста на производот ефикасно да ја врати својата првобитна структура по првата компресија, откако ќе му се дозволи одреден период на одмор пред повторната компресија, при што се симулира однесувањето на сирењето за време на цвакањето во уста (Foegeding & Drake, 2007). Во рамки на оваа студија, примероците произведени во пролет покажаа статистички значајно пониски вредности на еластичност (2,13) во споредба со оние произведени во есен (3,15) ( $p < 0,05$ ), што укажува на сезонско влијание врз способноста на сирењето да се деформира и повторно да ја воспостави својата структура. Генерално, добиените вредности на еластичност беа повисоки од оние објавени од Туркмен и Гулер (Türkmen & Güler, 2022) за саламурени турски бели сирења, како и од резултатите пријавени од Милорадовиќ и соработниците (Miloradovic et al., 2018) за козјо бело саламурено сирење, каде што вредностите изнесувале приближно 0,9 по 60, односно 50 дена зреење. Еластичноста на сирењето е под влијание на неколку фактори, вклучувајќи ги и концентрацијата на сол, која може да ја зголеми еластичноста преку зајакнување на интеракциите во протеинската мрежа и намалување на слободната вода (Soltani et al., 2024), како и структурните промени за време на зреењето, како што се протеолизата, ослободувањето калциум и хидролизата на казеинските молекули, кои обично доведуваат до намалување на еластичноста (Dabour et al., 2006).

Како што истакнале Фегединг и Дрејк (Foegeding & Drake, 2007), адхезивноста ја одразува тенденцијата на мастиканиот примерок да се лепи на оралните површини по пет циклуси на цвакање. Во примероците анализирани во рамките на оваа студија, не се забележани статистички значајни разлики во адхезивноста по 60 дена зреење, без оглед на сезоната на производство (0,63 кај пролетните и 0,64 кај есенските примероци). Сите анализирани примероци покажаа позитивни вредности блиску до нула, што е спротивно на резултатите пријавени од Туркмен и Гулер (Türkmen & Güler, 2022) за саламурени турски бели сирења, кои прикажале негативни вредности блиску до нула. Негативни вредности на адхезивноста се забележани и во истражувањето на Алхалајлех и соработниците (Alkhalailah, 2025) за свежо бело саламурено козјо сирење. Според Женг и соработниците (Zheng et al., 2016), оптималното ниво на адхезивност е корисно за консумација, бидејќи придонесува за позитивната перцепција на вкусот и на текстурата

на сирењето. Сепак, прекумерната адхезивност може да предизвика практични проблеми, вклучувајќи лепење на пакувањето и развој на непожелни текстурни дефекти.

### 4.3. Анализа на испарливи соединенија

Анализата на испарливите органски соединенија во сирењето претставува клучен инструмент за разбирање на биохемиските процеси што се одвиваат за време на зреењето и директно влијаат врз квалитетот и врз сензорните карактеристики на производот. VOCs, како што се киселини, кетони, алкохоли, естери, алдехиди и сулфурни соединенија, настануваат како резултат на разградбата на липидите, протеините и лактозата под дејство на ензимска и на микробиолошка активност (Bertuzzi et al., 2018). Овие соединенија директно се одговорни за формирањето на карактеристичната арома и на карактеристичниот вкус на сирењето, поради што нивната идентификација и квантитативна анализа претставуваат значаен индикатор за текот на зреењето и за метаболичката активност на микроорганизмите (Yavuz et al., 2021).

Вкупно 53 соединенија беа откриени во примероците од козјите сирења, вклучувајќи естри (10), кетони (7), алкохоли (8), јаглевороди (6), киселини (14) и други помали соединенија (8), како што е прикажано во табелата 21. Киселините, кетоните и алкохолите беа најзастапените соединенија во двата вида сирење. Сепак, сирењето произведено на есен имаше посложен ароматичен профил во споредба со она произведено на пролет, со 51 идентификувани VOCs во есенското сирење наспроти 31 во пролетните примероци. Ова веројатно се должи на поизразената протеолтичка активност на изолатите на млечнокисели бактерии од есенската сезона, што води до поголема генерација на испарливи соединенија од протеинската фракција на сирењето и го збогатува неговиот ароматичен профил.

Табела 21: Релативен процент на вкупни испарливи органски соединенија откриени во пролетно и во есенско сурово козјо сирење

Соединенија	RI(est)	RI(lit)	Пролет			Есен		
			t0	t30	t60	t0	t30	t60
<b>Естри</b>								
Етил етаноат	868	890	0,85±0,49	0,22±0,07	0,13±0,03	0,25±0,06	0,03±0	0,04±0
Етил бутаноат	1028	1036	1,2±0,05	1,37±0,38	2,06±1,41	н.д.	0,33±0,31	1,56±0,03
Бутил етаноат	1067	1064	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	0,04±0
3-метилбутил етаноат	1117	1118	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	0,17±0,06	н.д.
Метил хексаноат	1181	1178	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	0,15±0,01
Етил хексаноат	1230	1232	1,08±0,05	0,98±0,15	1,18±0,25	1,22±0,24	0,84±0,06	4,22±1,17
3-метилбутил бутаноат	1262	1255	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	0,06±0,01	0,13±0,06
Пропил хексаноат	1317	1321	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	0,41±0,3
Етил октаноат	1431	1435	0,1±0,09	0,34±0,06	0,17±0,17	0,11±0,11	0,12±0,01	1,52±0,74
Пропил октаноат	1518	1504	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	0,1±0,1
<i>Вкупно естри</i>			3,23±0,3	2,91±0,54	3,55±1,86	1,58±0,4	1,55±0,32	8,17±2,4
<b>Кетони</b>								
2-бутанон	883	901	1,19±0,74	5,39±2,54	24,3±1,6	0,19±0,09	8,71±4,01	8,79±1,65
2-пентанон	963	975	1,06±0,28	1,13±0,21	0,61±0,02	0,25±0,04	2,36±1,83	0,54±0,23

**Докторска дисертација: „Микробна динамика и карактеризација на автохтони млечнокисели бактерии во традиционално произведено бело саламурено козјо сирење“**

Метил изобутил кетон	1000	1008	0,59±0,54	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.
2-хексанон	1074	1077	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	0,07±0,05	0,02±0,01
2-хептанон	1177	1174	2,25±0,08	1,56±0,21	1,18±0,1	0,49±0,09	4±1,76	1,75±1,06
Ацетоин	1287	1287	2,73±2,47	2,66±0,3	0,41±0	5±0,97	2,97±0,81	0,81±0,32
2-нонанон	1384	1383	0,37±0,08	0,26±0,04	0,13±0,14	0,1±0,1	0,34±0,04	0,65±0,43
<i>Вкупно кетони</i>			<i>8,19±0,09</i>	<i>11±2,8</i>	<i>26,62±1,59</i>	<i>6,03±1,11</i>	<i>18,45±8,43</i>	<i>12,56±3,69</i>
<b>Алкохоли</b>								
Етанол	924	937	6,04±1,39	2,19±0,96	2±0,23	6,87±0,86	0,64±0,18	0,41±0,04
3-метил-2-хептанол	1023	НП	н.д.	0,46±0,05	1,19±0,21	н.д.	0,26±0,15	0,06±0,01
2-пентанол	1128	1124	н.д.	0,08±0,05	н.д.	н.д.	0,08±0,06	0,02±0
3-метил-1-бутанол	1213	1229	24,03±4,41	18,86±0,84	13,1±1,05	16,87±3,89	3,59±1,35	1,09±0,35
3-метил-2-хексанол	1326	1331	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	0,21±0,14	0,05±0,05
3,4-диметил-1-пентанол	1358	1412	н.д.	н.д.	н.д.	1,71±0,43	1,2±0,1	0,19±0,03
Фенилетил алкохол	1926	1929	0,03±0,02	0,26±0	0,7±0,08	0,13±0,04	0,07±0,01	0,08±0,02
3-метилфенол	2104	2107	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	0,03±0	0,03±0,01
<i>Вкупно алкохоли</i>			<i>30,1±5,77</i>	<i>21,84±0,03</i>	<i>16,99±1,1</i>	<i>25,58±4,29</i>	<i>6,08±1,98</i>	<i>1,92±0,47</i>
<b>Јаглеводороди</b>								
Изобутан	804	НП	2,51±1,73	0,58±0,08	0,09±0,07	0,4±0,09	0,17±0,12	н.д.
Толуен	1028	1031	н.д.	н.д.	н.д.	4,7±2,06	7,79±4,29	н.д.
4-метил-1-пентен	1150	НП	0,04±0,04	н.д.	н.д.	0,12±0,12	0,31±0,11	0,18±0
Лимонен	1178	1171	н.д.	н.д.	н.д.	0,38±0,04	н.д.	н.д.
Стирен	1250	1250	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	0,06±0,06
Ди-терт-бутилбензен	1420	1426	1,31±0,06	0,77±0,11	0,41±0,07	0,35±0,14	0,04±0,04	0,03±0,01
<i>Вкупно јаглеводороди</i>			<i>3,86±1,75</i>	<i>1,35±0,2</i>	<i>0,5±0,13</i>	<i>5,95±2,09</i>	<i>8,3±4,34</i>	<i>0,27±0,06</i>
<b>Киселини</b>								
Оцетна киселина	1453	1439	1,85±1,68	1,84±1	3,97±0,27	3,91±0,93	10,17±2,5	7,01±1
Пропанска киселина	1546	1525	н.д.	н.д.	н.д.	0,03±0,03	0,12±0,04	0,25±0,06
2-метилпропанска киселина	1574	1555	0,04±0,04	0,62±0,13	0,76±0,16	н.д.	0,4±0,05	0,56±0,21
Бутанска киселина	1631	1621	11,09±4,13	15,48±1,05	11,65±0,09	13,92±0,92	16,45±1,64	20,36±3,43
3-метилбутанска киселина	1673	1665	0,57±0,22	1,59±0,42	1,73±0,16	0,1±0,1	2±0,42	2,44±0,9
Пропандиоева киселина, пропил естер	1755	1733	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	0,02±0,02	0,07±0,02
Хексанска киселина	1858	1842	23,91±4,11	30,48±3,5	19,37±1,02	23,7±2,61	23,02±4,36	25,9±0,19
Хептанска киселина	1963	1957	0,21±0,01	0,4±0,12	0,19±0,03	0,13±0,05	0,11±0,01	0,14±0,01
Октанска киселина	2066	2076	9,97±2,41	9,47±0,87	11,32±2,14	14,08±4,61	10,3±1,58	15,1±2,95
Нонанска киселина	2174	2168	н.д.	н.д.	0,07±0	0,07±0,02	0,03±0,01	0,05±0,01
п-деканонична киселина	2280	2290	0,78±0,16	1,14±0,1	1,58±0,07	2,0±0,91	1,78±0,58	4,35±1,19
9-деценоична киселина	2345	2335	н.д.	н.д.	н.д.	0,06±0,03	0,04±0,01	0,04±0,01
Бензоева киселина	2464	2449	0,06±0,03	0,19±0,07	0,1±0,01	0,14±0,04	0,14±0,03	0,12±0,01
Додеканска киселина	2493	2504	н.д.	н.д.	н.д.	0,05±0,05	0,01±0,01	0,03±0
<i>Вкупно киселини</i>			<i>48,49±11,95</i>	<i>61,2±3,51</i>	<i>50,74±2,89</i>	<i>58,2±8,07</i>	<i>64,59±1,88</i>	<i>76,44±1,63</i>
<b>Други соединенија</b>								
3-метилбутанал	903	909	1,17±0,81	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.
Диметил дисулфид	1063	1061	2,73±3,24	0,55±0,3	н.д.	1,23±0,21	н.д.	н.д.

Докторска дисертација: „Микробна динамика и карактеризација на автохтони млечнокисели бактерии во традиционално произведено бело саламурено козјо сирење“

Трихлорометан	1015	1017	н.д.	н.д.	н.д.	0,09±0,09	0,32±0,34	н.д.
Изобутил хлорид	1105	НП	0,76±0,34	0,52±0	0,31±0,3	1,18±0,16	0,07±0,03	0,04±0,02
1-пропоксипентан	1116	НП	н.д.	0,12±0,01	0,14±0,14	н.д.	н.д.	0,39±0,09
Неидентификувано 1	936		0,75±0,16	0,35±0,1	0,3±0,09	0,04±0,04	0,06±0,04	0,04±0,01
Неидентификувано 2	1004		н.д.	н.д.	н.д.	0,11±0,11	0,39±0,42	н.д.
Неидентификувано 3	1038		0,71±0,48	0,17±0,16	0,84±0,12	н.д.	0,19±0,18	0,16±0,01
<i>Вкупно други</i>			<i>6,12±3,57</i>	<i>1,71±0,31</i>	<i>1,59±0,44</i>	<i>2,65±0,13</i>	<i>0,91±0,31</i>	<i>0,63±0,09</i>

Скратеници: RI(est) – Ретенционен индекс (измерен); Ретенционен индекс (литература); НП – не е пријавено; н.д. – не е детектирано; t0, t30, t60 – фази на зреење (денови).

Профилот на VOCs помеѓу есенските и пролетните примероци е прикажан на топлинската мапа (слика бр. 10), истакнувајќи ги нивните варијации за време на зреењето на t0, t30 и на t60. Боите, од сина до црвена, го означуваат релативниот процент на вкупните VOCs, од ниски до високи концентрации.

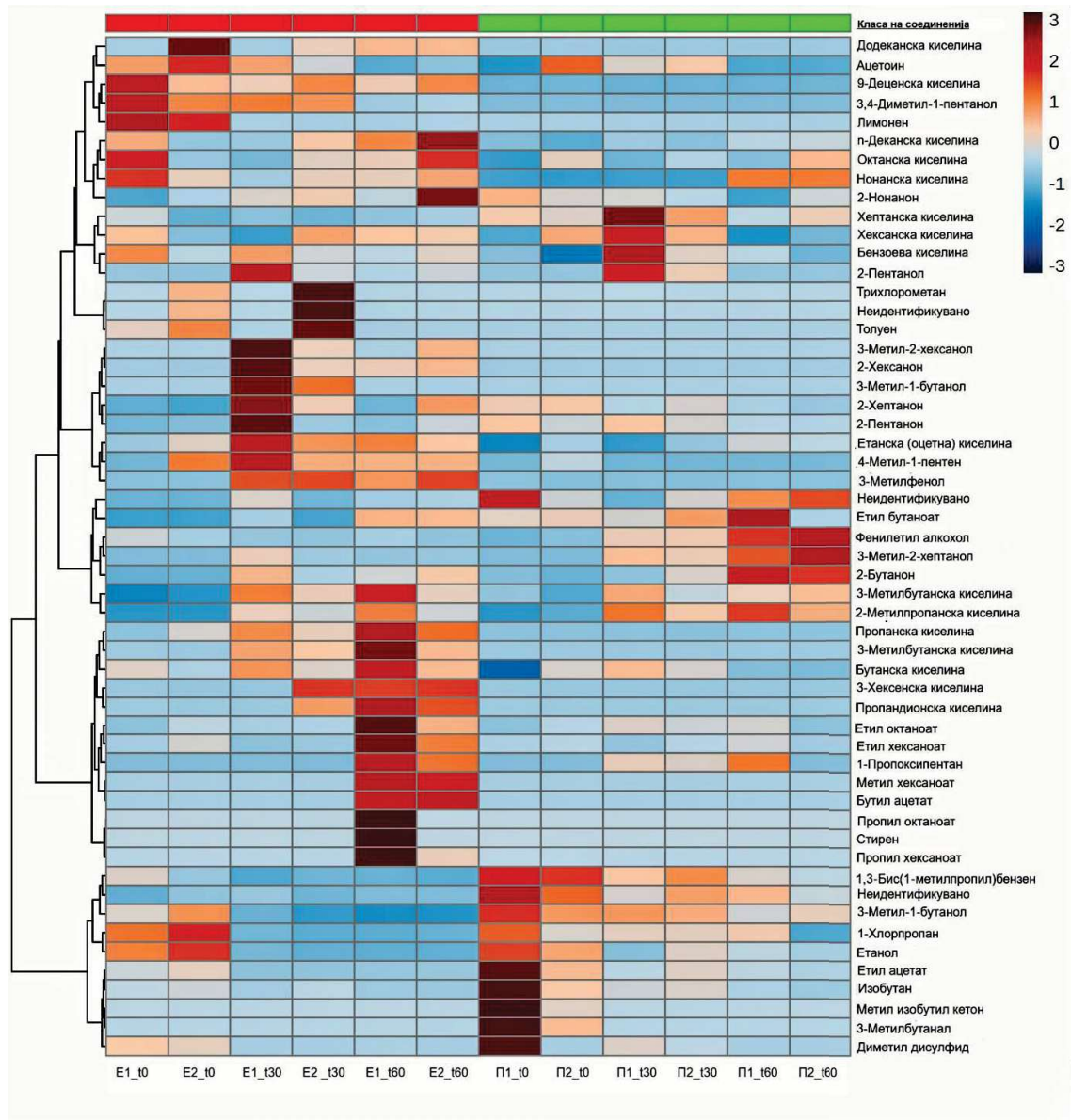
Киселините беа доминантни испарливи соединенија – особено кај есенските сирења, а нивната концентрација имаше тенденција да се зголемува за време на зреењето, веројатно одразувајќи ја метаболичката активност на хетероферментативните млечнокиселински бактерии. Хексанската киселина, проследена со бутанската и со октанската киселина, беа доминантни. Овие масни киселини се типични ароматични соединенија на козјите сирења (Delgado et al., 2011). Сулејмани и Хајалоглу (Sulejmani & Nayaloglu, 2018) забележале дека концентрацијата на карбоксилни киселини силно е под влијание на термичката обработка, бидејќи сирењето од сурово козјо млеко е побогато од пастеризираното.

Слично на тоа, концентрацијата на кетони сочинува 13-27 % од вкупните VOCs (есенско и пролетно сирење, соодветно) на крајот од зреењето, при што 2-бутанонот придонесува најмногу. Различни микроорганизми можат да произведат кетони од катаболизам на слободни масни киселини. Овие соединенија имаат низок праг на мирис и се поврзани со земјени и со сирести ноти (Penland et al., 2021). Меѓу кетоните, ацетоинот беше најзастапеното соединение во примероците од сирење на t0, сочинувајќи 2,7 % од вкупните VOCs во пролетното сирење и 5 % во есенското сирење. Сепак, неговата концентрација се намали со зреењето, што се припишува на развојот на вкусот на сирењето за време на зреењето (Castillo et al., 2007).

Примероците на сирење произведени во есен покажаа и акумулација на етил естри во текот на зреењето, вклучувајќи ги етил естрите на бутанска, хексанска и на октанска киселина, додека кај пролетните примероци не беа забележани значајни разлики. Етил естрите придонесуваат за цветни ноти и се сметаат за клучни ароматични соединенија кај зрелите сирења (на пр., Grana Padano, Gorgonzola) (Delgado et al., 2011).

Алкохолите беа втората најзастапена класа на испарливи органски соединенија (VOCs) во козјото сирење во раната фаза на зреење. Нивната концентрација, заедно со јаглеродородите и со другите помалку застапени соединенија, се намалуваа со зреењето. На пример, 3-метил-1-бутанол (или изопентил алкохол) и етанол беа најзастапените алкохоли во фазата t0 и кај есенските и кај пролетните примероци (17-24 % и 6-7 %, соодветно), а нивната концентрација значително се намали за време на зреењето. Намалувањето може да се припише на формирањето естри. Иако 3-метил-1-бутанол и етанол претходно биле идентификувани во сирење од сурово козјо млеко,

други автори регистрирале зголемување на нивната концентрација за време на зреењето, што може да зависи од составот на starter-културата (Castillo et al., 2007; Sulejmani & Nayaloglu, 2018).

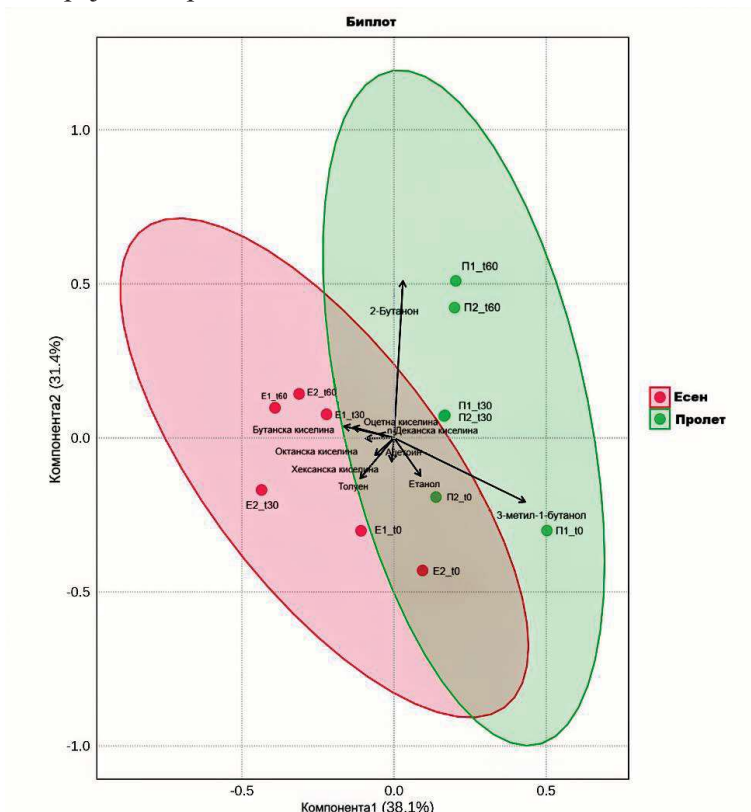


Слика бр. 10: Топлинска мапа на профилот на испарливи органски соединенија (VOCs) во пролетни и во есенски сирења (П – пролет, Е – есен) во фази на зреење (t<sub>0</sub>, t<sub>30</sub>, t<sub>60</sub>)

Дополнително, беше спроведена анализа PLS-DA користејќи ги профилите на испарливи соединенија на есенските и на пролетните примероци сирење (слика бр. 11).

Првата компонента на PLS-DA ги дискриминираше примероците според сезоната (есен наспроти пролет), при што главни придонесувачи беа 3-метил-1-бутанол, бутанска и етанска киселина. Од друга страна, 2-бутанон главно придонесе за раздвојувањето во втората компонента во зависност од фазата на зреење. Слично, Сулејмани и Хајалоглу

(Sulejmani & Nayaloglu, 2018) регистрирале поголема количина на 2-бутанон во сирење од козјо млеко на крајот од зреењето.



Слика бр. 11: Резултати од анализата PLS-DA на профилите на испарливи органски соединенија кај сирењата во фази на зреење (t0, t30, t60)

Општо земено, 3-метил-1-бутанол, бутанска киселина и 2-бутанон се сметаат за клучни ароматични соединенија на козјите сирења како Majorero или Queso Ibore (Castillo et al., 2007; Delgado et al., 2011; Kontodimos et al., 2023).

#### 4.4. Микробиолошка анализа

##### 4.4.1. Број на живи микроорганизми

Одредувањето на бројот на живи микроорганизми во млекото и во сирењето претставува фундаментален пристап за процена на хигиенскиот квалитет, микробиолошката безбедност и на технолошките перформанси за време на производството и за време на зреењето на сирењето (Jay et al., 2005; Walstra et al., 2005). Квантификацијата на специфични микробни групи дава увид во динамиката на ферментација, потенцијалот за расипување и во присуството на индикаторски или патогени микроорганизми (Fox et al., 2017b).

Резултатите од бројот на живите микроорганизми се претставени во табелите 22 и 23 за примероците од пролет и од есен посебно.

Табела 22: Број на живи микроорганизми во примероци од млеко и од сирење произведени во пролет, земени во различни периоди на зреење (t0, t30 и t60 дена)

Микробна група	Примерок	П1	П2	Вкупна средна вредност
Вкупни мезофилни аероби	М	6,13 ± 0,07	6,68 ± 0,03	6,40 ± 0,32 <sup>a</sup>
	C_t0	7,10 ± 0,02	8,76 ± 0,03	7,93 ± 0,96 <sup>a</sup>
	C_t30	7,60 ± 0,02	7,52 ± 0,02	7,56 ± 0,05 <sup>a</sup>
	C_t60	6,50 ± 0,01	6,53 ± 0,02	6,51 ± 0,02 <sup>a</sup>
Претпоставени мезофилни лактобацили	М	2,91 ± 0,15	3,40 ± 0,13	3,15 ± 0,30 <sup>b</sup>
	C_t0	4,63 ± 0,14	7,50 ± 0,01	6,06 ± 1,66 <sup>a</sup>
	C_t30	6,67 ± 0,01	7,52 ± 0,06	7,10 ± 0,50 <sup>a</sup>
	C_t60	7,44 ± 0,04	5,59 ± 0,10	6,51 ± 1,07 <sup>a</sup>
Претпоставени мезофилни лактококи	М	4,55 ± 0,03	4,65 ± 0,04	4,60 ± 0,07 <sup>b</sup>
	C_t0	7,19 ± 0,18	7,72 ± 0,01	7,45 ± 0,33 <sup>a</sup>
	C_t30	6,92 ± 0,00	7,65 ± 0,06	7,28 ± 0,42 <sup>a</sup>
	C_t60	7,57 ± 0,12	6,80 ± 0,01	7,18 ± 0,45 <sup>a</sup>
Претпоставени коагулазно-негативни стафилококи	М	4,39 ± 0,04	4,57 ± 0,03	4,48 ± 0,11 <sup>a</sup>
	C_t0	5,34 ± 0,05	7,93 ± 0,22	6,64 ± 1,50 <sup>a</sup>
	C_t30	6,26 ± 0,37	6,94 ± 0,03	6,60 ± 0,45 <sup>a</sup>
	C_t60	7,05 ± 0,05	6,89 ± 0,01	6,97 ± 0,10 <sup>a</sup>
Претпоставени коагулазно-позитивни стафилококи	М	3,18 ± 0,07	3,54 ± 0,09	3,36 ± 0,22 <sup>a</sup>
	C_t0	3,02 ± 0,04	6,50 ± 0,06	4,76 ± 2,01 <sup>a</sup>
	C_t30	<1	5,70 ± 0,01	2,85 ± 3,29 <sup>a</sup>
	C_t60	<1	<1	<1 <sup>a</sup>
Enterobacteriaceae	М	<1	2,16 ± 0,06	1,08 ± 1,25 <sup>b</sup>
	C_t0	6,09 ± 0,07	6,25 ± 0,03	6,17 ± 0,10 <sup>a</sup>
	C_t30	2,07 ± 0,04	4,85 ± 0,01	3,46 ± 1,61 <sup>a</sup>
	C_t60	<1	<1	<1 <sup>a</sup>
<i>Escherichia coli</i>	М	<1	2,02 ± 0,09	1,01 ± 1,17 <sup>a</sup>
	C_t0	2,10 ± 0,03	7,24 ± 0,02	4,67 ± 2,97 <sup>a</sup>
	C_t30	<1	5,10 ± 0,02	2,55 ± 2,94 <sup>a</sup>
	C_t60	<1	3,37 ± 0,02	1,68 ± 1,94 <sup>a</sup>
Квасци	М	3,59 ± 0,30	3,64 ± 0,18	3,61 ± 0,21 <sup>a</sup>
	C_t0	4,42 ± 0,01	4,58 ± 0,06	4,50 ± 0,10 <sup>a</sup>
	C_t30	6,69 ± 0,01	6,84 ± 0,03	6,76 ± 0,09 <sup>a</sup>
	C_t60	6,18 ± 0,25	6,65 ± 0,10	6,42 ± 0,31 <sup>a</sup>
Мувли	М	1,45 ± 0,04	1,49 ± 0,08	1,47 ± 0,06 <sup>a</sup>
	C_t0	<1	<1	<1 <sup>b</sup>
	C_t30	<1	<1	<1 <sup>b</sup>
	C_t60	<1	<1	<1 <sup>b</sup>

Вредностите се прикажани како Log cfu g<sup>-1</sup> и претставуваат средна вредност ± стандардна девијација. Различни мали букви укажуваат на статистички значајни разлики (p < 0,05) помеѓу вкупните средни вредности на примероците од пролет и од есен. Скратеници: П – пролет; 1 и 2 – серии на производство; М – млеко; С – сирење; t0, t30, t60 – фази на зреење (денови).

Во примероците од млеко беа откриени високи вредности на вкупните мезофилни аеробни бактерии, достигнувајќи 6,40 log cfu g<sup>-1</sup> во млекото произведено во пролет, а

5,41 log cfu g<sup>-1</sup> во млекото произведено во есен. Млекото содржи комплексна микробна заедница чиј состав е динамичен и варира во зависност од здравјето на животните, исхраната, фармерските практики, сезоната и од условите на складирање (Parente et al., 2020). Вкупните мезофилни аеробни вредности добиени во оваа студија се споредливи со оние објавени од Пикон и соработниците (Picon et al., 2016) за сурово козјо млеко собрано во различни места на производство и сезони, почнувајќи од приближно 6,0 до 6,3 log CFU g<sup>-1</sup> во пролетни и во есенски примероци, соодветно. Слични резултати се објавени од Милхер и соработниците (Muehlherr et al., 2003) за примероци од сурово козјо млеко (n=344) земени од 403 различни фарми во Швајцарија со средна вредност од 6,92 log cfu/ml. Резултатите покажуваат дека микробиолошките вредности во анализираното млеко ги надминаа лимитите утврдени од Регулативата (ЕС) бр. 853/2004 на Европскиот парламент и на Советот за утврдување специфични хигиенски правила за храна од животинско потекло, која наведува дека суровото млеко од други видови (различни од крави), наменето за производство на производи без термичка обработка, не треба да надминува 500 000 cfu mL<sup>-1</sup>.

Табела 23: Број на живи микроорганизми во примероци од млеко и сирење произведени во есен земени во различни периоди на зреење (t0, t30 и t60 дена)

Микробна група	Примерок	E1	E2	Вкупна средна вредност
Вкупни мезофилни аероби	M	4,99 ± 0,02	5,84 ± 0,03	5,41 ± 0,49 <sup>b</sup>
	C_t0	6,94 ± 0,02	6,85 ± 0,02	6,90 ± 0,05 <sup>a</sup>
	C_t30	5,72 ± 0,04	3,40 ± 0,11	4,56 ± 1,34 <sup>b</sup>
	C_t60	7,03 ± 0,04	5,56 ± 0,12	6,30 ± 0,85 <sup>a</sup>
Претпоставени мезофилни лактобацили	M	4,84 ± 0,08	4,86 ± 0,07	4,85 ± 0,06 <sup>a</sup>
	C_t0	6,77 ± 0,01	6,58 ± 0,07	6,68 ± 0,12 <sup>a</sup>
	C_t30	5,12 ± 0,08	3,65 ± 0,07	4,39 ± 0,85 <sup>b</sup>
	C_t60	6,65 ± 0,01	4,91 ± 0,06	5,78 ± 1,00 <sup>a</sup>
Претпоставени мезофилни лактококи	M	4,99 ± 0,01	5,18 ± 0,01	5,08 ± 0,11 <sup>a</sup>
	C_t0	6,92 ± 0,02	6,69 ± 0,08	6,80 ± 0,14 <sup>b</sup>
	C_t30	5,21 ± 0,05	3,58 ± 0,09	4,39 ± 0,94 <sup>b</sup>
	C_t60	6,80 ± 0,01	5,41 ± 0,10	6,11 ± 0,81 <sup>b</sup>
Претпоставени коагулазно-негативни стафилококи	M	2,75 ± 0,04	3,15 ± 0,04	2,95 ± 0,23 <sup>b</sup>
	C_t0	<1	<1	<1 <sup>b</sup>
	C_t30	3,52 ± 0,06	<1	1,76 ± 2,03 <sup>b</sup>
	C_t60	5,87 ± 0,12	<1	2,93 ± 3,39 <sup>b</sup>
Претпоставени коагулазно-позитивни стафилококи	M	1,52 ± 0,06	2,30 ± 0,17	1,91 ± 0,46 <sup>b</sup>
	C_t0	5,80 ± 0,49	5,81 ± 0,02	5,80 ± 0,29 <sup>a</sup>
	C_t30	3,67 ± 0,37	<1	1,70 ± 1,98 <sup>a</sup>
	C_t60	3,46 ± 0,09	<1	1,76 ± 2,04 <sup>a</sup>
Enterobacteriaceae	M	3,48 ± 0,01	3,49 ± 0,04	3,49 ± 0,02 <sup>a</sup>
	C_t0	5,68 ± 0,04	4,99 ± 0,02	5,34 ± 0,40 <sup>b</sup>
	C_t30	3,23 ± 0,07	<1	1,61 ± 1,86 <sup>a</sup>
	C_t60	2,60 ± 0,14	<1	1,25 ± 1,45 <sup>a</sup>
<i>Escherichia coli</i>	M	<1	2,41 ± 0,10	1,20 ± 1,39 <sup>a</sup>
	C_t0	4,43 ± 0,07	3,89 ± 0,06	4,16 ± 0,32 <sup>a</sup>

	C_t30	2,36 ± 0,08	<1	1,21 ± 1,40 <sup>a</sup>
	C_t60	2,16 ± 0,06	<1	1,06 ± 1,22 <sup>a</sup>
Квасци	M	3,79 ± 0,00	3,67 ± 0,06	3,73 ± 0,07 <sup>a</sup>
	C_t0	3,65 ± 0,04	3,21 ± 0,06	3,43 ± 0,26 <sup>b</sup>
	C_t30	1,00 ± 0,01	1,12 ± 0,01	1,06 ± 0,01 <sup>b</sup>
	C_t60	3,67 ± 0,08	2,76 ± 0,12	3,22 ± 0,53 <sup>b</sup>
Мувли	M	1,81 ± 0,05	1,71 ± 0,15	1,76 ± 0,11 <sup>a</sup>
	C_t0	2,19 ± 0,16	2,54 ± 0,09	2,36 ± 0,23 <sup>a</sup>
	C_t30	1,00 ± 0,20	1,20 ± 0,10	1,10 ± 0,10 <sup>a</sup>
	C_t60	2,15 ± 0,21	1,10 ± 0,12	1,08 ± 1,25 <sup>a</sup>

Вредностите се прикажани како Log cfu g<sup>-1</sup> и претставуваат средна вредност ± стандардна девијација. Различни мали букви укажуваат на статистички значајни разлики (p < 0,05) помеѓу вкупните средни вредности на примероците од пролет и од есен. Скратеници: Е – есен; 1 и 2 – серии на производство; М – млеко; С – сирење; t0, t30, t60 – фази на зреење (денови).

Во однос на примероците од сирење, вкупниот број мезофилни аеробни бактерии достигна до 6,5 log cfu g<sup>-1</sup> по 60 дена зреење кај пролетно сирење и 6,30 кај есенското сирење, без забележани значајни разлики помеѓу примероците собрани во двете сезони за време на зреењето (p > 0,05). Бројките забележани во примероците анализирани во оваа студија, произведени во 10 % саламура, беа пониски од оние објавени од Милорадовиќ и соработниците (Miloradovic et al., 2018) за козјо бело саламурено сирење произведено во 3 % или во 6 % саламура, што укажува на посилен бактериостатски ефект поврзан со повисоката концентрација на сол што се користи во оваа студија. Во студијата на Младеновиќ и соработниците (Mladenović et al., 2022), кај традиционално српско козјо сирење, бројот на аеробни мезофилни бактерии на ден 0 бил 6,56 log CFU/g, а на ден 28 изнесувал 7,48 log CFU/g (по конверзија во логаритамска форма). Пролетното сирење во оваа студија покажа повисоки почетни вредности (7,93 log cfu g<sup>-1</sup>) и слични вредности на ден 30 (7,56 log cfu g<sup>-1</sup>). Есенското сирење имаше почетна вредност од 6,90 log cfu g<sup>-1</sup>, по што следеше значително намалување на ден 30 (4,56 log cfu g<sup>-1</sup>). Споредба за периоди подолги од 28 дена не е можно, бидејќи нивната анализа ги опфаќа само првите 28 дена на зреење. Иако вкупниот број мезофилни аеробни бактерии дава само општа индикација за одржливата микробиота присутна во прехранбените производи, тие се сметаат за корисен параметар за процена на целокупниот микробиолошки квалитет. Кај сирењето, овие бројки го одразуваат комбинираното присуство на одржливи протехнолошки бактерии, како и потенцијално расипувачки и патогени микроорганизми (Pothakos et al., 2012), со што се нагласува потребата од понатамошно истражување за да се разјасни квалитативниот состав на микробната заедница.

Во однос на млечнокиселите бактерии, бројот на претпоставени мезофилни лактобацили не покажа статистички значајни разлики меѓу примероците по 60 дена зреење во двете сезони (p > 0,05), со средни вредности што достигнуваат 6,5 и 5,7 log cfu g<sup>-1</sup> во пролет и во есен, соодветно. Спротивно на тоа, претпоставените мезофилни лактококи покажаа значително повисоки средни вредности во примероците собрани во текот на пролетта во споредба со оние собрани во есен (p < 0,05), достигнувајќи вредности до 7,1 log cfu g<sup>-1</sup> во споредба со есенското сирење кое достигна вредност од 6,11 log cfu g<sup>-1</sup> во 60 ден на зреењето. Бројот на млечнокиселите бактерии во оваа студија

генерално беше помал од оној објавен од Милорадовиќ и соработниците (Miloradovic et al., 2018) за козјо бело саламурено сирење, потврдувајќи  $\sim 9 \log \text{ cfu g}^{-1}$  по 50 дена зреење. Бројот на претпоставени лактобацили во сирењата по 60 дена зреење во оваа студија изнесуваше  $6,51 \log \text{ cfu g}^{-1}$  (пролет) и  $5,78 \log \text{ cfu g}^{-1}$  (есен), што е пониско од вредностите пријавени од Пикон и соработниците (Picon et al., 2016) за козјо сирење од сурово млеко по 60 дена зреење ( $8,41-8,47 \log \text{ cfu g}^{-1}$ ), зависно од сезоната и од регионот на производство. Од друга страна, нашите резултати се во согласност со оние објавени од Халичи Демир и Каптан (Halici Demir & Kaptan, 2025) во белото сирење од Одрин направено од козјо млеко по 90 дена зреење, кое достигна  $6,6 \log \text{ cfu g}^{-1}$ . Спротивно на тоа, бројот на мезофилни лактококи беше помал од оној објавен во истата студија, каде што беа откриени вредности од приближно  $9 \log \text{ cfu g}^{-1}$ . Бројот на претпоставени мезофилни лактобацили изнесуваше  $3,15$  и  $4,85 \log \text{ cfu g}^{-1}$  во пролетното и во есенското млеко, соодветно, додека бројот на претпоставени мезофилни лактококи изнесуваше  $4,60$  и  $5,08 \log \text{ cfu g}^{-1}$ , соодветно. Млечнокиселите бактерии ја сочинуваат примарната микробна група одговорна за ферментација на сирењето. Нивното природно присуство во млекото, а со тоа и во сирењето, потекнува главно од површината на вимето на животното и од околната производна средина. Откако суровото млеко ќе се трансформира во коагулум, млечнокиселите бактерии ги метаболизираат јаглехидратите претежно во млечна киселина, која сочинува повеќе од 50 % од вкупните производи на ферментација (Chen et al., 2025). Хомолактичките видови произведуваат млечна киселина како главна органска киселина, додека хетероферментативните видови генерираат млечна киселина заедно со различни количини на оцетна киселина, етанол и на јаглерод диоксид ( $\text{CO}_2$ ). Закиселувањето на сирната маса има клучна улога во одредувањето на безбедноста и на квалитетот на сирењата произведени од сурово млеко, преку инхибиција на растот на патогени и на микроорганизми кои предизвикуваат расипување. Дополнително, протеолитичката активност на млечнокиселите бактерии придонесува за формирање испарливи соединенија од протеинската фракција на сирењето, со што се подобрува ароматичниот профил на финалниот производ.

Во млекото беа откриени вредности на претпоставени коагулаза-негативни стафилококи од  $4,48$  и  $2,95 \log \text{ cfu g}^{-1}$  за пролетното и за есенското производство, соодветно. Кај сирењата претпоставените коагулаза-негативни стафилококи покажаа статистички значајна сезонска варијација, со најголеми бројки забележани во пролет (достигнувајќи приближно  $7 \log \text{ cfu g}^{-1}$  по 60 дена зреење) во споредба со сирењето произведено во есен (достигнувајќи  $2,93 \log \text{ cfu g}^{-1}$  по 60 дена зреење). Коагулаза-негативните стафилококи се типично непатогени членови на нормалната коменсална флора. Тие покажуваат силна толеранција на екстреми на животната средина, способни се да растат во широк рН-опсег ( $4,8 - 9,4$ ) и да издржат високи концентрации на  $\text{NaCl}$  ( $7,5 - 10\%$ ) (Kürekci, 2016). Имено, овие бактерии се идентификувани како доминантни таксони во контејнерите за саламура на сирење, што укажува на важна улога во зреењето на сирењето и во развојот на аромата (Hammer et al., 2019). Неколку видови коагулаза-негативни стафилококи се идентификувани во средини поврзани со кози, вклучувајќи ги кожата, ноздрите, мукозните мембрани, млекото и сирењето (Becker et al., 2014), што може да ги објасни високите вредности забележани во оваа студија.

Enterobacteriaceae широко се признати како индикатори на добри производствени практики и на хигиена на процесот, додека *Escherichia coli* претставува показател за фекална контаминација. Во оваа студија, бројот на Enterobacteriaceae беше во просек поголем во примероците произведени во текот на есента ( $p < 0,05$ ), со средна вредност од  $1,25 \log \text{cfu g}^{-1}$  по 60 дена зреење во споредба со сирењата произведени во пролет кои достигна средна вредност  $< 1 \log \text{cfu g}^{-1}$  по 60 дена. Бројот на *Escherichia coli* не покажа статистички значајни разлики помеѓу двете сезони, со средни вредности кои се движеа помеѓу  $1,06$  и  $1,68 \log \text{cfu g}^{-1}$  по 60 дена зреење. Пикон и соработниците (Picon et al., 2016) пријавија повисок почетен број на Enterobacteriaceae на ден 0 кај козјите сирења од сурово млеко, независно од сезоната и од регионот на производство, со средни вредности од  $6,83$  до  $7,73 \log \text{cfu g}^{-1}$ , како и намалување за време на зреењето, при што по 60 дена вредностите достигнале од  $2,32$  до  $6,11 \log \text{cfu g}^{-1}$ . Општо намалување на бројот на Enterobacteriaceae беше забележано и во текот на зреењето кај сирењата кои се предмет на оваа студија. Сличен тренд на намалување беше забележан и кај *Escherichia coli*. Имено, млекото што се користеше за производство на сирење покажа значителни нивоа и на Enterobacteriaceae ( $1,08 \log \text{cfu g}^{-1}$  во пролетното сирење и  $3,49 \log \text{cfu g}^{-1}$  во есенското сирење) и на *Escherichia coli* ( $1,01 \log \text{cfu g}^{-1}$  во пролетното сирење и  $1,20 \log \text{cfu g}^{-1}$  во есенското сирење), што веројатно е резултат на неправилни практики на молзење што доведоа до контаминација на коагулумот и следствено на сирењето. Веројатно е дека саламурањето и закиселувањето од млечнокиселите бактерии создадоа непријателска средина што придонесе за намалување на оптоварувањето со Enterobacteriaceae и *Escherichia coli* (Vernozy-Rozand et al., 2005).

Претпоставените коагулаза-позитивни стафилококи откриени во млекото покажаа значително поголем број во примероците произведени во текот на пролетта во споредба со оние произведени во есен ( $3,36$  спроти  $4,85 \log \text{cfu g}^{-1}$ ,  $p < 0,05$ ). Спротивно на тоа, просечните бројки на коагулаза-позитивни стафилококи во примероците од сирење по ден 0 беа  $4,76 \log \text{cfu g}^{-1}$  за пролетните и  $5,80 \log \text{cfu g}^{-1}$  за есенските, додека по 60 дена зреење беа намалени на  $< 1,0 \log \text{cfu g}^{-1}$  за пролетните и  $1,76 \log \text{cfu g}^{-1}$  за есенските сирења ( $p < 0,05$ ). Присуството на коагулаза-позитивни стафилококи во млекото и во сирењето претставува потенцијален ризик за здравјето на луѓето, бидејќи оваа група Грам-позитивни бактерии вклучува токсигени видови како што се *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* и *Staphylococcus aureus* (Samanta & Vandyopadhyay, 2020). *Staphylococcus aureus* е добро познат загадувач на млекото и примарен предизвикувачки агенс на маститис кај млечни животни, што го прави млекото од заразени животни несоодветно за човечка консумација. Маститисот и понатаму претставува голема загриженост во млечната индустрија поради широката распространетост на *Staph. aureus* и поради неговата леснотија на пренесување меѓу животните, што на крајот може да доведе до контаминација на млекото и на млечните производи. Дополнително, вкрстена контаминација може да се појави преку недоволно дезинфицирана опрема или преку неправилно ракување за време на молзењето и на преработката (Léguillier et al., 2024). Во оваа студија, не се дијагностицирани клинички случаи на маститис кај козите од кои е добивано млекото; сепак, не може да се исклучи можноста дека некои животни страдале од недијагностицирана супклиничка форма. Треба да се напоми дека *Staph. aureus* е коменсален микроорганизам кој најчесто ги

населува кожата, носните патишта и гастроинтестиналниот тракт на луѓето. Затоа, неговото потенцијално присуство во анализираните примероци од сирење може да е резултат на вкрстена контаминација поврзана со несоодветни хигиенски практики за време на производството. Стафилококното труење со храна е гастроинтестинално заболување предизвикано од внесување храна што содржи ентеротоксини, дури и кога се јавуваат во минимални количини ( $<1 \mu\text{g}$ ), произведени од *Staph. aureus* (Bencardino et al., 2021; Shalaby et al., 2024). Овие ентеротоксини можат да поминат низ гастроинтестиналниот тракт во голема мера незасегнати, бидејќи се отпорни на разградување од протеолитички ензими. Откако ќе се апсорбираат во крвотокот, тие можат да предизвикаат симптоми како што се гадење и повраќање (Bencardino et al., 2021). *Staph. aureus* може да расте и да произведува ентеротоксини и на температури што ги надминуваат оние кои обично се користат за ладење на храната. Иако соодветната термичка обработка може да ги инактивира клетките на *Staph. aureus*, претходно формираните ентеротоксини многу се отпорни на топлина и не можат да се елиминираат со вообичаени методи на готвење како што се пастеризација, варење, печење или пржење (Cesaro et al., 2022).

Врз основа на бројот на коагулаза-позитивни стафилококи откриени во анализираните примероци од млеко и од сирење, стафилококните ентеротоксини А, В, С, D и Е заеднички беа оценети. Во ниту еден од примероците не беа откриени ентеротоксини, што укажува на отсуство на коагулаза-позитивни стафилококи кои произведуваат токсини. Овие наоди се во согласност со барањата утврдени со Регулативата на Комисијата (ЕС) бр. 2073/2005 за микробиолошки критериуми за прехранбени производи и со Правилникот за посебните барања кои се однесуваат на микробиолошките критериуми за храната 2013-100 (Сл. весник на РМ, бр. 100/2013 година). Ниту *Salmonella* spp. ниту *L. monocytogenes* не беа откриени во ниту еден од анализираните примероци, што ја потврдува безбедноста на сирењето испитано во оваа студија.

Во однос на квасците и мувлите во примероците од млеко, не беа забележани статистички значајни разлики помеѓу примероците произведени во пролет и во есен, при што бројот на квасци во просек изнесуваше околу  $3 \log \text{cfu mL}^{-1}$ , а бројот на мувли околу  $1 \log \text{cfu mL}^{-1}$ . Добиените резултати во оваа студија се во согласност со претходно објавените од Торкар и Венгушт (Torkar & Vengušt, 2008), кои го испитувале габичниот состав на 60 примероци сурово млеко произведено во Словенија. Поточно, Торкар и Венгушт (Torkar & Vengušt, 2008) утврдиле присуство на квасци во 95 % од примероците млеко, со просечно ниво од  $1,7 \log_{10} \text{cfu mL}^{-1}$ . Наспроти тоа, мувлите биле идентификувани во 63 % од примероците, при што покажале пониска средна концентрација од  $0,6 \log_{10} \text{cfu mL}^{-1}$  (Torkar & Vengušt, 2008). Авторите посочиле дека храната за животните, воздухот и околината може да претставуваат потенцијални извори на контаминација.

Во однос на бројот на квасци во сирењето, генерално беа утврдени високи вредности во примероците анализирани во оваа студија, при што сирењата произведени во пролет покажаа статистички значајно повисоки вредности во споредба со оние произведени во есен ( $p < 0,05$ ). Поточно, кај сирењата произведени во пролет, просечниот број се зголеми од приближно  $4 \log \text{cfu g}^{-1}$  на  $t_0$  до околу  $6 \log \text{cfu g}^{-1}$  на  $t_{60}$ ,

при што статистички значајно повисоки вредности беа забележани на  $t_{30}$  и на  $t_{60}$  ( $p < 0,05$ ). Наспроти тоа, сирењата произведени во есен покажаа просечен број квасци од околу  $3 \log \text{cfu g}^{-1}$ , по што следеше статистички значајно намалување на приближно  $1 \log \text{cfu g}^{-1}$  по 30 дена зреење ( $p < 0,05$ ).

Вкупните просечни вредности на квасци утврдени на  $t_0$  во оваа студија беа генерално повисоки од оние пријавени од Геронику и соработниците (Geronikou et al., 2023) за бело саламурено сирење складирано на  $10 \text{ }^\circ\text{C}$ , каде што биле забележани почетни вредности од приближно  $2 \log \text{cfu g}^{-1}$ . Пониските почетни вредности пријавени од Геронику и соработниците (Geronikou et al., 2023) може да се припишат на употребата на пастеризирано млеко во нивната студија. Сепак, бројот на квасци во белото саламурено сирење испитувано од Геронику и соработниците (Geronikou et al., 2023) се зголемува за време на зреењето, достигнувајќи до  $6 \log \text{cfu g}^{-1}$  по 60 дена на  $10 \text{ }^\circ\text{C}$ ; овие вредности значително беа повисоки од оние утврдени во оваа студија кај есенските примероци, но споредливи со вредностите регистрирани кај пролетните сирења. Интересно, како што беше забележано и во оваа студија, бројот на квасци во примероците анализирани од Геронику и соработниците (Geronikou et al., 2023) покажал флукутации, со варијации од приближно  $1-2 \log \text{cfu g}^{-1}$  помеѓу различните времиња на земање примероци.

Во однос на бројот на мувли, сирењата произведени во пролет покажаа статистички значајно пониски просечни вредности во споредба со оние произведени во есен, независно од времето на земање примероци ( $p < 0,05$ ). Поточно, бројот на мувли кај пролетните примероци беше постојано под  $1 \log \text{cfu g}^{-1}$ , додека кај есенските сирења беше забележано благо намалување помеѓу  $t_0$  и  $t_{30}$ , достигнувајќи просечна вредност од околу  $1 \log \text{cfu g}^{-1}$  по 60 дена зреење. Според сознанијата на авторите, постои ограничена научна литература во однос на бројот на мувли кај белите саламурени сирења. Сепак, комбинираниот број квасци и мувли пријавен од Милорадовиќ и соработниците (Miloradovic et al., 2018) за козји бели саламурени сирења зрени во 6 % саламура се движел од приближно  $4 \log \text{cfu g}^{-1}$  по 10 дена до  $6,5 \log \text{cfu g}^{-1}$  по 50 дена зреење, со што се потврдува подложноста на саламурените сирења на контаминација со мувли.

#### 4.4.2. Метатаксономска анализа

Козјото млеко содржи разновидна микробна заедница, а тоа значително влијае врз неговиот квалитет, безбедноста и врз неговите здравствени придобивки. Видовите во микробната заедница варираат во зависност од фактори како што се фазата на лактација, расата на кози, техниките за управување со фармата и условите на животната средина (Monareng et al., 2025).

Со оглед на оваа комплексност, за целосно разбирање на микробната динамика во млекото и во сирењето е неопходна примена на современи, културно-независни методи. Метатаксономската анализа базирана на високопродуктивно секвенционирање на генот 16S rRNA овозможува сеопфатна карактеризација на микробните заедници во млечни производи, вклучувајќи детекција на доминантни, но и на таксони со ниска застапеност кои можат да имаат значајно влијание врз ферментацијата, зреењето, сензорните својства и врз безбедноста на производот. Ваквиот пристап овозможува откривање

комплексни микробиолошки структури во екосистемот на сирењето кои не се детектираат со традиционалните културни методи, како и идентификација на микробни маркери поврзани со специфичните производствени услови и со квалитетот на производот (Kamimura et al., 2020; Monareng et al., 2025).

Вкупно, за метатаксонomsка анализа на бактериската биота беа користени 89 257 читања, со просек од 2 625 секвенции по примерок. Составот на микробиотата, претставен како релативна застапеност на бактериските ASVs, е прикажан на сликата бр. 12.

Млекото употребено за производство на пролетното сирење (примероци П\_М1 и П\_М2) покажа изразена доминација на родот *Pseudomonas*, кој учествуваше со 76,65 % и 71,05 % од вкупната релативна фреквенција, соодветно. По застапеност следуваа претставници на родот *Deinococcus*, со удел од 13,62 % кај П\_М1 и од 10,98 % кај П\_М2 од релативната фреквенција, како и претставници на фамилијата *Micrococcaceae*, кои беа присутни со 4,67 % и 4,49 %, соодветно.

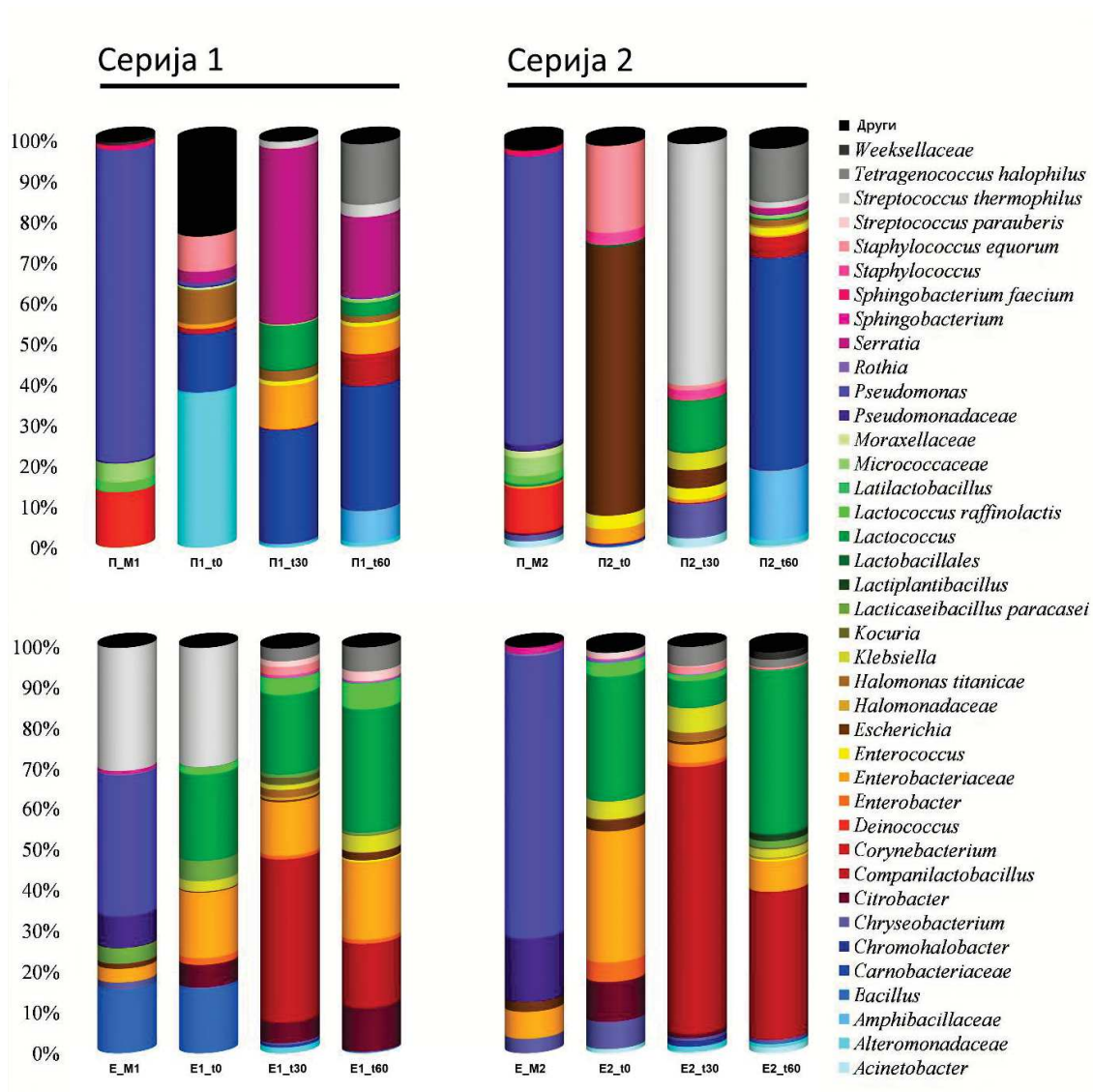
Дополнително, примерокот П\_М2 се одликуваше со поголема микробна разновидност, при што беа детектирани и други таксони во пониска релативна фреквенција, вклучувајќи *Chryseobacterium* spp. (1,50 %), *Lactococcus* spp. (2,50 %), претставници на фамилијата *Moraxellaceae* (1,66 %) и *Sphingobacterium faecium* (1,33 %).

И во есенското млеко се покажа доминација на фамилијата *Pseudomonadaceae* и на родот *Pseudomonas*, кои заедно сочинуваат над 40 % од релативната фреквенција, укажувајќи на нивната значајна улога во микробната заедница на млекото. Покрај тоа, и примероците Е\_М1 и Е\_М2 демонстрираа присуство на претставници на *Enterobacteriaceae* (3,32 % и 6,58 % од релативната фреквенција, соодветно), *Escherichia* spp. (1,26 % и 2,41 % од релативната фреквенција), *Chryseobacterium* spp. (1,78 % и 3,56 % од релативната фреквенција) и *Sphingobacterium* spp. (0,80 % и 1,60 %), што дополнително ја илустрира разновидноста на есенската микробна флора.

Конкретно, Е\_М1 се одликуваше со значително присуство на *Bacillus* spp. (15,55 % од релативната фреквенција), како и на млечнокисели бактерии, вклучувајќи *Lacticaseibacillus paracasei* (3,81 %) и *Streptococcus thermophilus* (30,30 %), што укажува на комплексна и хетерогена микробна заедница со потенцијална технолошка и функционална релевантност за ферментацијата и за развојот на вкусот во сирењето.

*Pseudomonas* spp. претставуваа доминантни бактериски таксони во анализираните примероци од млеко. Овој род вклучува психротрофни видови кои добро се познати по својата способност да предизвикуваат расипување на суровото млеко, вклучително и на козјото млеко (Scatamburlo et al., 2015). Поради нивната висока генетска и метаболичка приспособливост, *Pseudomonas* spp. можат да опстојуваат во различни средини, вклучително и на површините и на опремата користена во млечната индустрија, како што се цевководите, резервоарите за молзење и системите за собирање млеко. Меѓу видовите, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Pseudomonas putida* најчесто се поврзани со млечниот синџир и се познати по способноста да произведуваат протеази отпорни на топлина, кои можат да ги расипат млекото и млечните производи (Scatamburlo et al., 2015). Овие ензими ја разградуваат казеинската мицела, што резултира со промени во физичко-хемиските својства и во сензорниот квалитет на суровото млеко. Истражувањата на Скатамбурло и соработниците (Scatamburlo et al.,

2015) ја нагласуваат важноста на мониторинг на *Pseudomonas* spp. за време на производство и на складирање на козјо млеко за да се минимизира нивното негативно влијание врз квалитетот на млечните производи.



Слика бр. 12: Состав на бактериската микробиота во примероци од млеко (М) и од сирење од различни сезони (П – пролет, Е – есен), серии на производство (серија 1 и 2) и фази на зреење (t0, t30, t60), претставен како релативна фреквенција на ASVs

Што се однесува до *Deinococcus* spp., Декадт и соработниците (Decadt et al., 2025) неодамна го документираа нивното присуство во примероци од саламура употребена во производство на млечни производи, што укажува на можен сличен извор и во примероците од оваа студија. Првично класифицирани како *Micrococcus*, овие бактерии се кокоидни или стапчести и неспорулирачки микроорганизми, кои се истакнуваат по својата исклучителна толеранција на различни облици на стрес и по ефикасните механизми за поправка на оштетувањето на ДНК (Gerber et al., 2015). Дополнително,

видовите од родот *Deinococcus* се сметаат за потенцијално корисни во индустриската биотехнологија, поради нивната способност да разградуваат и да метаболизираат широк спектар на јаглехидрати, вклучувајќи едноставни шеќери, како и полимерни форми, што ги прави интересни кандидати за примена во прехранбената и во биотехнолошката индустрија (Gerber et al., 2015).

Меѓу млечнокиселите бактерии присутни во суровото млеко, родот *Lactococcus* се истакнува по својата способност за адаптација кон производната средина. Во сирењата произведени од непастеризирано млеко, *Lactococcus* честопати станува доминантен таксон, со што го потиснува растот на расипувачки и потенцијално патогенски микроорганизми, обезбедувајќи стабилност и безбедност на финалниот производ (Cavanagh et al., 2015). И видот *Lactococcus paracasei* е идентификуван во суровото млеко како млечнокисела нестартер-бактерија со потенцијална улога како помошна култура, што ја потврдува неговата значајност во подобрување на квалитетот и на сензорните својства на сирењето (Bettera et al., 2023). Присуството на *Streptococcus thermophilus* во суровото млеко е документирано и во претходни истражувања, што укажува на неговата способност да опстојува во млекото и да придонесува за ферментациониот процес за време на производството на сирење (Delgado et al., 2013).

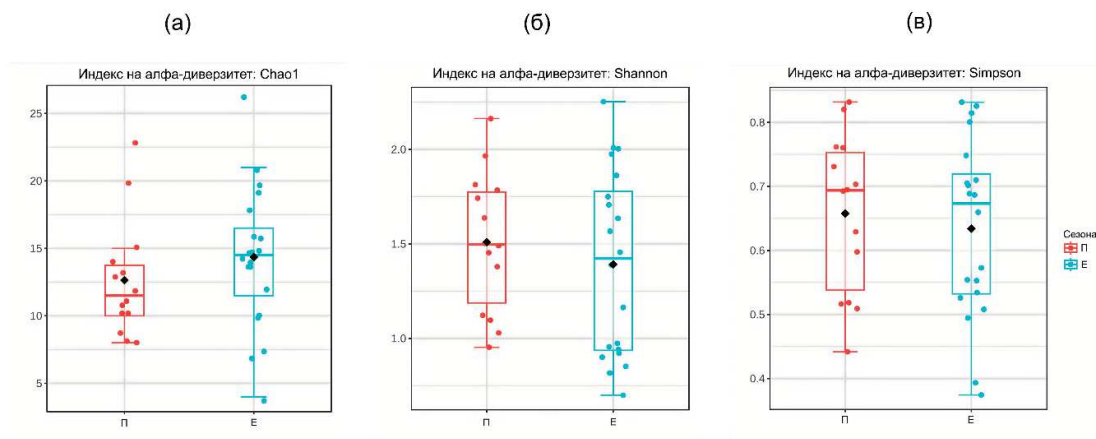
Детекцијата на ASVs кои припаѓаат на фамилијата Enterobacteriaceae и на родот *Escherichia* во примероците од млеко е во согласност со резултатите добиени преку микробиолошките пребројувања, со што дополнително се потврдува нивното реално присуство во суровината.

Во однос на примероците од сирење, анализата на индексите на алфа-диверзитет не покажа статистички значајни разлики помеѓу пролетните (П) и есенските (Е) примероци ( $p > 0,05$ ) (Слика бр. 13). Иако есенските примероци покажаа повисоки вредности на индексот Chao1, што укажува на поголемо таксономско богатство (панел а), индексите Shannon (панел б) и Simpson (панел в) благо беа пониски во споредба со пролетните. Сепак, ниту една од овие разлики не достигна статистичка значајност ( $p > 0,05$ ).

Анализата на бета-диверзитетот, спроведена врз основа на Бреј-Кертисовата различност (Bray-Curtis dissimilarity), откри јасна и значајна поделба помеѓу пролетните и есенските примероци од сирење (слика бр. 14). Првите три оски на PCoA објаснија 26,9 %, 18,1 % и 13,6 % од вкупната варијанса, соодветно, а анализата PERMANOVA ја потврди статистичката значајност на разликите во составот на микробната заедница помеѓу сезоните ( $p < 0,05$ ). Независно од сезоната на производство, примероците од сирење покажаа присуство на *Chryseobacterium* spp. (вкупен просек 1,64 % од релативната фреквенција), Enterobacteriaceae (8,42 %), *Halomonas* spp. (1,24 %) и *Staphylococcus equorum* (2,38%), што укажува на стабилно присуство на овие бактериски таксони низ различните сезони и на нивната релевантна улога во микробиолошката структура на сирењето.

Присуството на *Chryseobacterium* во испитаните примероци од сирење укажува на интересна врска со микробиотата која традиционално се развива на дрвените алатки и на подовите во млечните погони, како што објавија Рута и соработниците (Ruta et al., 2025). Ова сугерира дека бактериите во сирењето можат да потекнуваат од контакт со

производствената опрема и со работните површини, што ги истакнува важноста на хигиената и влијанието на околината врз микробниот состав на финалниот производ.



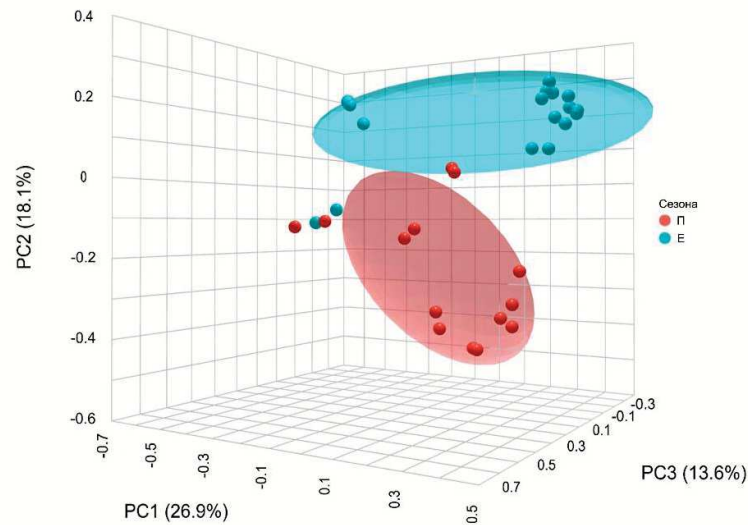
Слика бр. 13: Алфа-диверзитет на микробната заедница (Chao1, Shannon и Simpson) кај пролетни и кај есенски примероци (Wilcoxon тест, сезона П – пролет, Е – есен)

Во однос на *Halomonas*, неговото присуство во примероците тесно е поврзано со неговата халофилна природа, односно со способноста да преживува и да напредува во средини со висока концентрација на сол, што е типично за саламурените млечни производи. Ова е во согласност со податоците на Вермоте и соработниците (Vermote et al., 2018), кои пријавиле присуство на *Halomonas* во примероци од саламура и укажуваат дека бактеријата веројатно се внесува преку морската сол користена при производството на сирење. Поради тоа што морската вода е природен резервоар за овие микроорганизми, присуството на *Halomonas* во финалниот производ ја илустрира директната врска помеѓу суровините и микробниот екосистем на сирењето.

Комбинираното присуство на овие бактерии не само што открива различни изворни точки за микробиотата на сирењето, туку и ја нагласува комплексноста на микробниот екосистем што се формира за време на зреењето. Од една страна, *Chryseobacterium* ја рефлектира улогата на опремата и на површините како резервоар на микроорганизми, додека, од друга страна, *Halomonas* ја покажува влијателната улога на производствените состојки и на средините со висока концентрација на сол. Овие наоди ја потврдуваат важноста на внимателното следење на микробниот состав во сите фази од производството, како за безбедноста така и за органолептичките својства на финалниот производ.

ASVs идентификувани како *Staph. equorum* претходно биле изолирани од саламура во Германија (Hammer et al., 2019), што може да го објасни нивното присуство во испитаните примероци од сирење. Ова сознание ја потврдува корелацијата со резултатите од броењето на коагулаза-негативните коки и ја истакнува важноста на комбинирањето на традиционалните методи засновани на култура со современите ДНК-базирани техники за поцелосна карактеризација на микробиотата. Дополнително, изолат на *Staph. equorum* од саламура, испитан од Бокелман и соработниците (Bockelmann et al., 2017), покажал антилистеријална активност, што дополнително ги истакнува и

функционалната релевантност на овој вид во производната средина и неговата улога во осигурувањето на безбедноста и на квалитетот на крајниот производ.



Слика бр. 14: Бета-диверзитет на микробната заедница проценет со Бреј-Кертис (Bray-Curtis) и визуализиран со PCoA (сезона П – пролет, Е – есен)

Како што се очекуваше, млечнокиселите бактерии се покажаа како основна и клучна компонента на микробиотата во анализираниите примероци на сирење. *Streptococcus thermophilus* имаше просечно релативно изобилство од 8,33 %, додека *T. halophilus* со 2,93 %. *Lactococcus* spp. беше присутен во примероците од двете сезони, но со значително поголемо изобилство во есенските сирења (21,36 %) во споредба со пролетните (3,97 %).

Присуството на *Streptococcus thermophilus* ASVs во сирењето веројатно произлегува од микробиотата на млекото, што веќе беше дискутирано. Овој таксон е поврзан со зголемувањето на нивото на слободните масни киселини, деградација на протеините и со повисоки концентрации на слободни аминокиселини, сите фактори кои значително влијаат врз развојот на аромата на сирењето (Zhao et al., 2025a). Исто така, бидејќи е познато дека сувото солење ја намалува издржливоста на *Streptococcus thermophilus* во споредба со солењето со саламура (Hickey et al., 2017), користењето на саламурата во испитаните сирења најверојатно придонело за одржливост и за опстанок на овој микроорганизам во финалните производи.

*Tetragenococcus halophilus* е млечнокисела бактерија со висока толеранција на сол, која честопати е пријавувана како доминантен член на микробиотата во ферментирани рибни производи и во сос од соја (Belleggia & Osimani, 2023; Zhang et al., 2024). Сепак, нејзиното присуство во сирењето изгледа како ретко и невообичаено. И покрај тоа, видот *Tetragenococcus* е идентификуван и во различни средини поврзани со млечни производи, вклучувајќи саламура и сирења од сурово млеко, како мексиканската *Cotija* и францускиот *Brie de Meaux* (Rodríguez et al., 2022). Понатаму, неодамна овој род беше детектиран и во традиционални шпански сирења со сини вени направени од сурово млеко, како и во турски сирења со додаток на билки, што дополнително ја потврдува

неговата ограничена појава, но релевантна улога во млечните производи (Rodríguez et al., 2022; Rüstemoğlu et al., 2023).

Во однос на ASVs на *Lactococcus* spp., овој род на млечнокисели бактерии го вклучува *Lactococcus lactis*, кој ги вклучува подвидовите *lactis* и *cremoris* и кој се користи како клучна почетна култура во млечната индустрија, вклучувајќи го и производството на саламурено сирење (Altin et al., 2024). Видовите *Lactococcus* се присутни во различни екосистеми, од сурово млеко и сирења од сурово млеко до средини без млечни производи (Cavanagh et al., 2015). Нивната способност да ја претворат лактозата во млечна киселина им обезбедува значителна конкурентска предност во млекото, поддржана од генетски елементи кои ја оптимизираат метаболизацијата на лактозата. Адаптацијата на овој род кон производната средина вклучува не само стекнување гени за метаболизирање шеќери и протеини, туку и пошироки процеси на припитомување, кои се карактеризираат со динамично стекнување и со губење плазмиди (Cavanagh et al., 2015). *Lactococcus* покажува и сој-зависни ефекти врз казеинската протеолиза во турското бело саламурено сирење, влијаејќи врз концентрациите на слободни аминокиселини (Hayaloglu et al., 2004) и веројатно менувајќи го испарливиот ароматичен профил на финалниот производ (Zhao et al., 2025a).

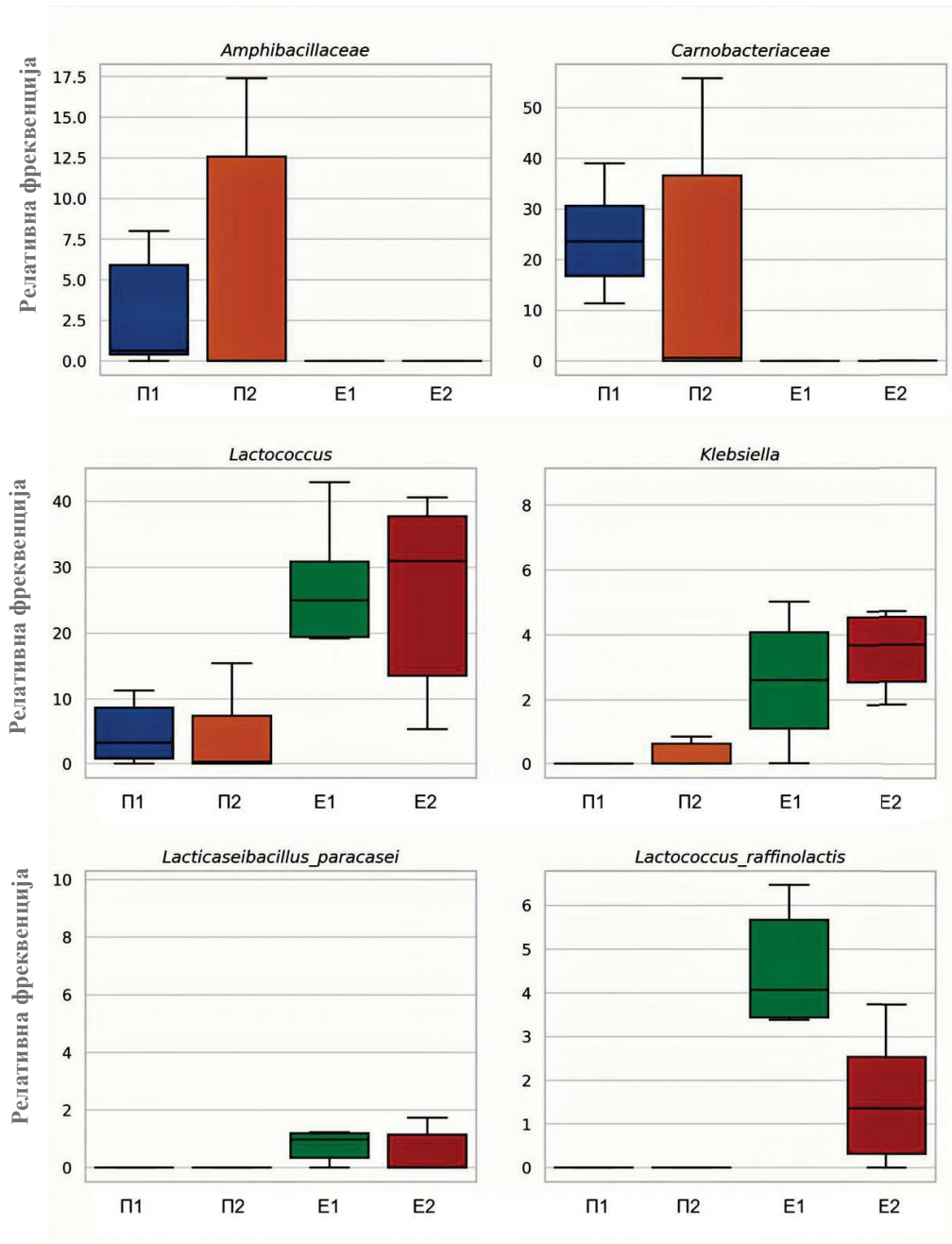
Присуството на Enterobacteriaceae во сите испитувани примероци од сирење ја истакнува потребата од строго почитување на хигиенските стандарди и од внимателен мониторинг во текот на целиот процес на производство.

Разликите во релативното изобилство на бактериски таксони помеѓу пролетните и есенските примероци се прикажани на сликите 15 и 16 и ја откриваат сезонската варијабилност на микробната заедница.

Во пролетните примероци, значително повисоки вредности беа забележани за *Amphibacillaceae* (просечно 3,67 % од релативната фреквенција), *Carnobacteriaceae* (17,91 %) и *Enterococcus* spp. (1,37 %). Особено интересен е примерокот П1 од пролетната серија, кој покажа голема изобилност на *Serratia* spp., со почетни 2,74 % на t0, растење на 43,12 % на t30 и конечна вредност од 19,84 % на t60, што сугерира динамични промени во микробната заедница во текот на процесот на зреење. Во П1\_t0 беше забележано и високо присуство на *Alteromonadaceae* (37,81%), кое значително се намали на под 1 % во наредните времиња на анализата, укажувајќи на привремена доминација на овој таксон. Овие резултати ја нагласуваат комплексната природа на микробиотата во традиционалното сирење и ја потенцираат важноста од следење на специфични бактериски групи, кои може да влијаат врз квалитетот, безбедноста и врз органолептичките својства на финалниот производ.

До сега, бактериските видови од фамилијата *Amphibacillaceae* ретко се детектирани во сирење, што ја прави оваа студија значајна за откривање нова биолошка ниша за овие микроорганизми. Претходни извештаи ја поврзуваат појавата на *Amphibacillus* со саламурата користена во зелени маслинки во шпански стил (Correa-Galeote et al., 2022). Овој род вклучува халофилни бактерии кои имаат минимална толеранција на NaCl од 6 %, што ја ограничува нивната способност за раст во помалку солени средини. Во контекст на анализираниите примероци, присуството на ASVs на *Amphibacillaceae* веројатно се должи на условите со висока соленост кои се

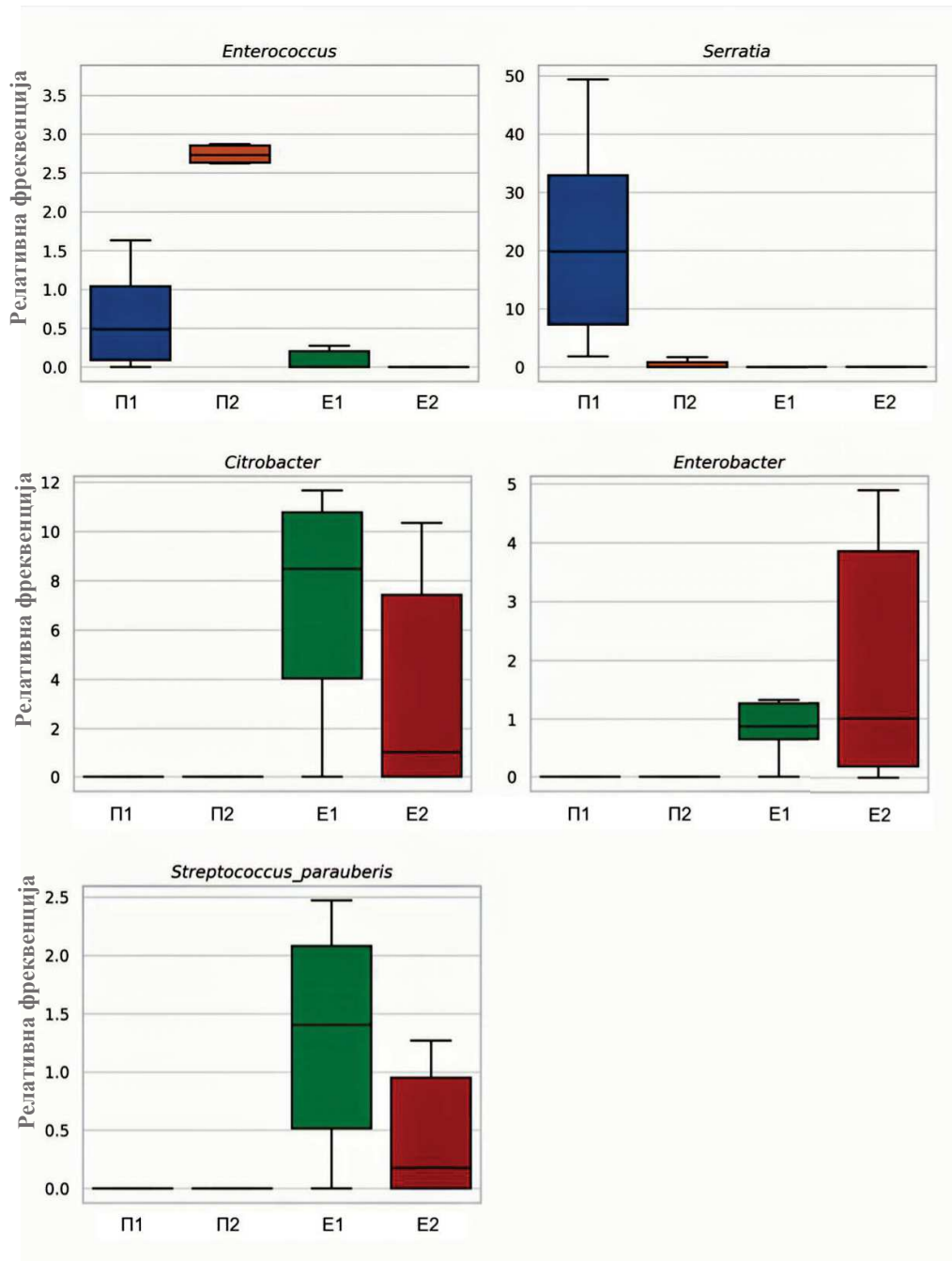
карактеристични за процесот на зреење во саламура, што овозможува нивен опстанок и учество во микробната динамика на финалниот производ.



Слика бр. 15: Релативна фреквенција на бактериски таксони во сирењата произведени во пролет (П, серија 1 и 2) и во есен (Е, серија 1 и 2)

Присуството на *Carnobacterium* во производната средина не е невообичаено, бидејќи овие бактерии претходно биле изолирани од саламура во дански млекарници (Haastrup et al., 2018). Во рамките на фамилијата *Carnobacteriaceae*, видовите од родот *Carnobacterium* се детектирани во различни типови сирења, како што се француски меки

сирења со површинско зрење со мувли, меки зрели сирења и сирења со црвена кора произведени од кравјо, овчо или од козјо млеко, како и во моцарела (Afzal et al., 2010).



Слика бр. 16: Релативна фреквенција на бактериски таксони во сирењата произведени во пролет (П, серија 1 и 2) и во есен (Е, серија 1 и 2)

Поради нивната релативно бавна способност за закиселување на млекото, овие бактерии не се сметаат за погодни како стартер-култури. Наместо тоа, тие се класифицираат како млечнокисели нестартер-бактерии, чија улога се поврзува, пред сè,

со процесите на зреење и со формирањето на ароматичниот профил на сирењето (Afzal et al., 2010).

Во однос на *Enterococcus* spp., нивната појава и нивната функционална улога подетално ќе бидат разгледани во следното поглавје, каде што се презентирани резултатите од изолацијата и карактеризацијата на ентерококните соеви добиени од сирењето и од примероците од животната средина во рамките на оваа студија. Иако присуството на ентерококи во сирењето останува предмет на дискусија поради нивната поврзаност со нозокомијални инфекции, тие одамна се препознаени и како значајни протехнолошки микроорганизми, со потенцијал да придонесат за развојот на аромата и за продукција на бактериоцини активни против прехранбено-преносливи патогени (Favaro et al., 2014).

Зголемената релативна застапеност на *Serratia* во пролетните примероци најверојатно корелира со повисоките вредности на Enterobacteriaceae, имајќи предвид дека овој расипувачки род припаѓа токму на оваа фамилија и може да придонесе за неговата вкупна бројност.

Од друга страна, сирењата произведени во есен се одликуваа со повисока релативна застапеност на *Citrobacter* spp. (вкупен просек 4,60 % од релативната фреквенција), *Enterobacter* spp. (1,33 %), *Klebsiella* spp. (2,88 %), *Lacticaseibacillus paracasei* (1,17 %), *Lactococcus raffinolactis* (2,38 %) и *Streptococcus parauberis* (0,76 %) (слики бр. 15 и 16). Кај примерокот E1\_t0 беше регистрирана значајна застапеност на *Bacillus* spp. (15,73 %), но овој таксон не беше детектиран во подоцнежните фази на зреење. Наспроти тоа, родот *Companilactobacillus*, кој не беше присутен на почетокот (t0), стана доминантен во текот на зреењето (t30 и t60), достигнувајќи вкупна просечна релативна застапеност од 22,47 %.

*Lacticaseibacillus paracasei* се вбројува меѓу млечнокиселите нестартер-бактерии со хетероферментативен метаболизам и има значајна улога во текот на зреењето, преку придонес во формирањето ароматични соединенија и преку зголеменото создавање органски киселини. Овие метаболички активности можат индиректно да влијаат врз бојата и врз текстураалните својства на сирењето (Zhao et al., 2025a).

Во однос на *Lactococcus raffinolactis*, Кимото-Нира и соработниците (Kimoto-Nira et al., 2012) опишуваат коменсална интеракција со *Lactococcus lactis*, при што оваа асоцијација може да резултира со интензивирано производство на млечна киселина во сирната матрица.

*Streptococcus parauberis* неодамна е детектиран како дел од субдоминантната микробиота во малтешко овчо сирење и во шпанското сирење Torta del Casar (Ihsan et al., 2025). Иако неговата точна технолошка улога сè уште не е разјаснета целосно, пријавена е позитивна корелација со формирање ароматични компоненти, што укажува на можен придонес за развојот на покомплексен профил на вкус во сирењето.

*Companilactobacillus* (базоним *Lactobacillus alimentarius*) претставува млечнокисела бактерија со факултативно хетероферментативен метаболизам, за која достапните еколошки податоци сè уште релативно се ограничени (Tabanelli et al., 2024). И покрај тоа, овој род веќе е поврзан со млечни екосистеми, а кај козите е пријавен и негов пробиотски потенцијал, при што примената на изолати довела до подобрување на цревното здравје и до зголемување на нивото на незаситени масни киселини во млекото

(Tabanelli et al., 2024). Дополнително, објавено е дека видовите од родот *Companilactobacillus* се способни да синтетизираат бактериоцини со широк спектар на антимикробна активност, делувајќи и против Грам-позитивни и против Грам-негативни патогени бактерии (Honrada Perez et al., 2022), што укажува на нивен потенцијален придонес за микробната стабилност и за безбедноста на производот.

Идентификацијата на *Citrobacter*, *Enterobacter* и на *Klebsiella* во примероците од сирење е во согласност со претходно дискутираните вредности за Enterobacteriaceae, дополнително потврдувајќи го нивното присуство во анализираните производи.

Детекцијата на *Bacillus* spp. во сирењето кореспондира со метатаксономските наоди добиени за млекото од есенското производство, што укажува на можен трансфер на овие таксони од суровината во финалниот производ. Во оваа студија, *Bacillus* беше идентификуван исклучиво на ниво на род. Сепак, овој род вклучува видови со значителна прехранбена и хигиенска релевантност, како што е *Bacillus cereus*, признат причинител на труења со храна. Поради способноста на некои видови да формираат биофилмови на производствени површини и да придонесуваат за расипување на производите, присуството на овој род во суровината и во почетните фази на производство оправдува внимателно следење (Kumari & Sarkar, 2016). Сепак, позитивно е што *Bacillus* spp. не беше детектиран во фазите на зреење (ден 30 и 60), што укажува на тоа дека овие бактерии не се задржаа за време на зреењето и веројатно не го загрозуваат квалитетот, односно не ја загрозуваат безбедноста на финалниот производ.

Покрај доминантните групи, беа регистрирани и неколку таксони со ниска и спорадична застапеност, меѓу кои *Acinetobacter* spp., *Chromohalobacter* spp., *Corynebacterium* spp., *Kocuria* spp. и *Rothia* spp., што укажува на дополнителна, но ограничена микробна комплексност.

Генерално, по 60 дена зреење, пролетните сирења се карактеризираа со микробиота во која доминираа *Carnobacteriaceae*, Enterobacteriaceae, *Serratia* и *Tetragenococcus halophilus*, додека во есенските примероци во истата фаза на зреење преовладуваа *Companilactobacillus* и *Lactococcus* како главни таксони.

#### 4.4.3. Идентификација и карактеризација на млечнокисели бактерии

Изолацијата и карактеризацијата на млечнокиселите бактерии претставуваат клучен чекор во разбирањето на микробната екологија на занаетчиските сирења од сурово млеко и на технолошките функции што ги носи нивната култивирачка фракција. Додека пристапите независни од културата даваат сеопфатен преглед на целокупната микробиота, само обновувањето на одржливи изолати овозможува процена на специфичните особини за културата со директни импликации врз квалитетот и врз безбедноста на сирењето. Во традиционалните средини за производство на сирење, каде што суровото млеко, површините на млечните производи и опремата дејствуваат како природни резервоари на микроорганизми, млечнокиселите бактерии можат да покажат разновидни метаболички активности, вклучувајќи протеолиза, липолиза, синтеза на егзополисахариди, па дури и потенцијал за производство на биогени амини. Затоа, карактеризацијата на овие изолати е од суштинско значење не само за да се разјасни нивниот придонес за зреењето и за сензорниот развој, туку и за да се процени нивниот

технолошки потенцијал и да се идентификуваат соеви што можат да претставуваат загриженост за безбедноста (Settanni & Moschetti, 2010; Montel, 2014).

Во табелата 24 се сумираат идентификацијата и карактеризацијата на млечнокиселите бактерии изолирани од алатки и од производната средина.

Вкупно 21 изолати беа добиени од брисеви од средина и од алатки, кои опфаќаат 9 култури најтесно поврзани со *Levilactobacillus brevis*, 3 со *Enterococcus faecium*, 4 со *Enterococcus faecalis*, 1 со *Enterococcus pingfangensis/Enterococcus xiangfangensis*, 3 со *Pediococcus pentosaceus* и 1 со *Lactiplantibacillus paraplantarum*. Сите изолати беа оценети за активности на липаза и на протеаза, производство на EPS и за присуство на генот *hdcA*.

Меѓу изолираните соеви, *Lactobacillus brevis* се идентификува како микроаерофилна и строго хетероферментативна млечнокисела бактерија, присутна во разновидни еколошки ниши (Teixeira, 2014). Од аспект на млечната технологија, овој вид се вбројува во групата на млечнокисели нестартер-бактерии (Georgalaki et al., 2025). И покрај неговата широка распространетост, научните податоци за соеви на *L. brevis* со потекло од производствената средина остануваат ограничени. Неговата способност за синтеза на EPS и за формирање биофилмови може да придонесе за долготрајна перзистентност во млечните погони, што делумно го објаснува неговото опстојување во процесните услови поврзани со производството на сирење (Rezaei et al., 2023), дури и при примена на стандардни хигиенски мерки.

Дополнително, кај 4 од вкупно 9 изолати беше утврдено производство на EPS зависен од сахароза, додека кај еден изолат синтезата на EPS се одвиваше и без присуство на овој јаглехидрат, што укажува на изразен капацитет за формирање биофилм кај *L. brevis*.

Липолитичка активност беше детектирана само кај еден од анализираните изолати. Иако липазната активност не е типична карактеристика на млечнокиселите бактерии, нејзиното присуство во стартер-културите може значајно да придонесе за развојот на вкусот, имајќи предвид дека липазите учествуваат во ослободување слободни масни киселини и во формирање ароматични соединенија во ферментираниите млечни производи (Meuys et al., 1996). Притоа, претходни истражувања покажуваат дека одредени соеви на *L. brevis* поседуваат липази со потенцијална технолошка примена (Khan et al., 2017).

Сите испитани изолати покажаа изразена протеолитичка активност. Протеолитичкиот систем на млечнокиселите бактерии има централна улога во зреењето на сирењето, преку хидролиза на казеините и преку ослободување на пептиди и аминокиселини кои се прекурсори на ароматични соединенија. Како што наведуваат Ебади Нежад и соработниците (Ebadi Nezhad et al., 2020), културите со нагласен протеолитички потенцијал се преферираат при производство на тврди сирења, додека соевите со поумерена активност се посоодветни за свежи и за полутврди типови сирење.

Во однос на ентерококите, нивното присуство во производната средина не е изненадувачки, со оглед на тоа што претходно се документирани како дел од микробиотата на сурово млеко и од површини во млекарници. Така, Алп Гундог и соработниците (Alp Gundog et al., 2025) изолирале *E. faecium* и *E. faecalis* од резервоари и од опрема за молзење, што укажува на нивната способност да опстануваат во

производствената средина и да се пренесуваат во суровината. Дополнително, ентерококите се пријавени и во традиционални црногорски саламурени сирења (Ruppitsch et al., 2020), како и во домашно произведено бело саламурено сирење (Favaro et al., 2014), што ја потврдува нивната честа појава во занаетчиски млечни производи.

Табела 24: Идентификација и карактеризација на млечнокисели бактерии изолирани од алатки и од производната средина

Изолат	Најблиск сроден вид	% идентичност <sup>1</sup>	Активност на липаза*	Активност на протеаза*	Ген <i>hdcA</i>	EPS**	
						зависно од сахароза	независно од сахароза
C1	<i>Levilactobacillus brevis</i>	100,00 %	-	+	-	-	-
C2	<i>Levilactobacillus brevis</i>	99,90 %	-	++	-	-	-
C3	<i>Lactiplantibacillus paraplantarum</i>	99,42 %	-	+	-	+	-
C4	<i>Levilactobacillus brevis</i>	100,00 %	-	+	-	+	-
C5	<i>Levilactobacillus brevis</i>	99,81 %	-	+	-	+	+
C6	<i>Enterococcus faecium</i>	99,27 %	+	++	-	-	-
C7	<i>Enterococcus faecium</i>	99,91 %	+	+	-	-	-
C8	<i>Enterococcus faecium</i>	99,24 %	+	+	-	-	-
A1	<i>Levilactobacillus brevis</i>	99,88 %	-	+	-	+	-
A2	<i>Levilactobacillus brevis</i>	99,31 %	-	+	-	-	-
A3	<i>Levilactobacillus brevis</i>	100,00 %	+	+	-	-	-
A4	<i>Levilactobacillus brevis</i>	100,00 %	-	+	-	+	-
A5	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	99,79 %	-	+	-	+	-
A6	<i>Levilactobacillus brevis</i>	99,50 %	-	+	-	-	-
A7	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	99,42 %	-	++	-	-	-
A8	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	99,72 %	-	+	-	-	-
A9	<i>Enterococcus faecalis</i>	94,87 %	+	+	-	-	-
A10	<i>Enterococcus faecalis</i>	99,90 %	+	+	-	-	-
A11	<i>Enterococcus pingfangensis</i> <i>Enterococcus xiangfangensis</i>	99,83 %	+++	+	-	-	-
A12	<i>Enterococcus faecalis</i>	98,94 %	++	+	-	-	-
A13	<i>Enterococcus faecalis</i>	98,31 %	++	+	-	-	-

<sup>1</sup>Процент на идентични нуклеотиди во секвенцијата добиена од бактериските изолати и во секвенцијата на најблискиот роднина пронајден во базата на податоци GenBank.

\*-, негативен; +, позитивен (1 mm хало); ++, позитивен (1-2 mm хало); +++, позитивен (> 2 mm хало).

\*\* M, мукоидни колонии.

C – изолати од производната средина, A – изолати од алатки.

Кај изолатите карактеризирани во оваа студија, сите соеви на *E. faecium* покажаа липолитичка активност, што укажува на нивен потенцијален придонес за ослободување слободни масни киселини и во формирање на ароматични компоненти за време на зреењето. Слични липаза-продуцирачки соеви се опишани и од Рамакришан и соработниците (Ramakrishnan et al., 2012) и Мерих-Киванц и Ацу (Merih-Kivanc & Acu, 2022), што дополнително го нагласува технолошкиот потенцијал на овој вид во млечната

индустрија. Покрај тоа, сите испитани изолати на *E. faecium* манифестираа изразена протеолитичка активност. Ваквиот ензимски профил особено е значаен, бидејќи протеолизата претставува клучен механизам во генерирањето пептиди, слободни аминокиселини и испарливи соединенија што го обликуваат сензорниот профил на сирењето. Во таа насока, Моаједи и соработниците (Moayed et al., 2025) покажаа дека протеолитички соеви на *E. faecium* изолирани од традиционални сирења ја зголемиле содржината на слободни аминокиселини и придонеле за формирање пријатни ароматични соединенија во експериментални пијалаци на база на сурутка. Изолати на *E. faecium* со протеолитичка активност се пријавени и од Шериген и соработниците (Cheriguene et al., 2006) и Псони и соработниците (Psoni et al., 2007) за сурово козјо млеко и за козјо сирење од сурово млеко.

Од друга страна, кај ниту еден од анализираните изолати не беше детектирано производство на егзополисахариди, што сугерира дека нивната улога во текстуралните својства на производот веројатно е ограничена, а нивниот придонес се однесува претежно на ензимските активности поврзани со зреењето и со развојот на вкусот.

Изолатите на *E. faecalis* покажаа активност и на липаза и на протеаза. Липолитичката активност кај овој вид релативно ретко е документирана, што го отежнува споредувањето со претходните студии; сепак, Караско де Мендоса и соработниците (Carrasco de Mendoza et al., 1992) забележале присуство на липаза кај *E. faecalis*. Што се однесува до протеолитичката активност, *E. faecalis* var. *liquefaciens* честопати се поврзува со сирења кои покажуваат обемно разградување на протеините, бидејќи е ефикасен во разградбата на казеин и на други млечни протеини дури и при ниски температури на ладење (García et al., 2002). *E. faecalis* со протеолитичка активност е пријавено од Перин и соработниците (Perin et al., 2017) изолиран од сурово козјо млеко. Кај ниту еден од изолатите испитани во оваа студија не беше забележано производство на EPS.

Молекуларната идентификација на изолатот *Enterococcus* A11 не беше можна со сигурност, но секвенциската анализа укажува на тесна сродност со видовите *E. pingfangensis* и *E. xiangfangensis*. Двата вида првично беа изолирани од кинески кисели краставички (Li et al., 2014; Li et al., 2019), а *E. xiangfangensis* веќе е пријавен и во млечни производи, како спонтано ферментирана урда од Монголија, и во различни руски млечни производи (Yu et al., 2021). Дополнително, изолат што се смета за *E. pingfangensis* претходно е идентификуван во козјо сирење Gidoturi (Nelli et al., 2023), што укажува на тоа дека козјото сирење може да служи како потенцијално живеалиште за овој вид, иако идентификацијата не е дефинитивна. Изолатот A11 покажа висока липолитичка и протеолитичка активност, додека производство на EPS не беше детектирано.

Соевите на *Pediococcus pentosaceus* изолирани од вимето на крави кои даваат млеко нудат нови информации за селекција на култури со потенцијални заштитни својства во храната, поради нивната способност да произведуваат бактериоцини (Fischer et al., 2025). Интересот за употреба на *P. pentosaceus* во млечниот сектор се зголемува поради нивниот потенцијал како пробиотски микроорганизми и како стартер-култури за ферментација (Mgomi et al., 2022). За оваа цел, карактеризацијата на изолатите добиени во оваа студија обезбедува информации за избор на соодветни кандидати за подобрување на квалитетот и на безбедноста на сирењето.

Meѓу анализираните изолати, ниту еден не покажа активност на липаза, додека сите покажаа протеолитичка активност, што е во согласност со претходни извештаи. Вафопулу-Мастројинаки и соработниците (Vafopoulou-Mastrojiannaki et al., 1994) забележале дека *P. pentosaceus* изолиран од традиционални грчки сирења има висока активност на протеиназа, аминоксептидаза и на дипептидил аминоксептидаза, што ја потврдува важноста на овој род за ферментацијата и за формирањето на вкусот.

Што се однесува до производството на EPS, само еден од трите изолати на *P. pentosaceus* покажа производство на EPS зависно од сахароза, додека ниту еден изолат не произведе EPS независно од присуството на сахароза. Слично на тоа, соеви на *P. pentosaceus* кои произведуваат EPS со антиоксидантна активност се пријавени од растителни извори како пченица, ориз и разни зеленчуци (Sharma et al., 2024), што дополнително ги потенцира разновидноста и потенцијалот на овој вид за технолошки примени во различни прехранбени производи.

*Lactiplantibacillus paraplantarum* е факултативно хетероферментативна млечнокисела бактерија која може да расте во широк температурен опсег од 15 до 37 °C и да толерира концентрации на натриум хлорид до 8 %, што му овозможува да опстојува во различни суровини и производствени услови. Овој вид е класифициран како млечнокисела нестартер-бактерија и претходно е изолиран од различни видови сирење, вклучувајќи го италијанското Caciocavallo (Ciocia et al., 2013) и бразилските полутврди занаетчиски сорти (Winkelströter et al., 2015).

Кај изолатот испитан во оваа студија, активноста на липаза не беше детектирана, додека активноста на протеаза значително беше присутна, што укажува на неговиот потенцијал за учество во разградувањето на млечните протеини и за ослободување слободни аминокиселини за време на зреењето на сирењето. Протеолитичките активности на *L. paraplantarum* се споредливи со претходно пријавените активности на леуцин ариламидаза, валин ариламидаза и на цистеин ариламидаза, што дополнително ја истакнува улогата на овој род во формирањето вкус и арома во ферментираниите млечни производи (Prasev et al., 2025). Дополнително, анализираниот изолат произведе сахароза-зависни егзополисахариди. EPS може да влијае врз текстурата на сирењето, придонесувајќи за порамномерна структура, подобра конзистенција и за зголемена задржливост на влага, што особено е важно кај полутврди и кај меки сирења (Nikolic et al., 2012). Затоа, *Lactiplantibacillus paraplantarum* претставува интересен кандидат за примена како млечнокисела нестартер-бактерија во занаетчиското производство на сирење, комбинирајќи протеолитички потенцијал со способност за производство на EPS, што ја потврдува неговата релевантност и во квалитетот и во функционалноста на традиционалните млечни производи.

Изолирањето на млечнокиселите бактерии директно од сурово млеко, саламура и од примероци од сирење обезбедува суштински увид во ферментативната микробиота која активно ги поттикнува закиселувањето и зреењето на коагулумот. За разлика од изолатите од животната средина, овие изолати го одразуваат основниот микробен конзорциум кој опстојува и се адаптира во текот на производството на сирење. Нивната таксономска идентификација и функционална карактеризација помагаат да се разјаснат нивната технолошка релевантност и нивниот придонес за сензорната и за биохемиската еволуција на финалниот производ.

Резултатите од идентификацијата и од карактеризацијата на изолатите на млечнокисели бактерии од млеко (П1-П5 млеко произведено во пролет, Е1-Е7 млеко произведено во есен), сирење (П6-П12 пролетно сирење, серија 1, ден 0; П13-П19 пролетно сирење, серија 2, ден 0; П20-П26 пролетно сирење, серија 1, ден 30; П27-С33 пролетно сирење, серија 2, ден 30; П34-С40 пролетно сирење, серија 1, ден 60; П41-47 пролетно сирење, серија 2, ден 60; Е8-Е10 есенско сирење, серија 1, ден 0; Е11-Е12 есенско сирење, серија 2, ден 0; Е13-Е20 есенско сирење, серија 1, ден 30; Е21-Е28 есенско сирење, серија 2, ден 30; Е29-Е35 есенско сирење, серија 1, ден 60; Е36-Е43 есенско сирење, серија 2, ден 60) и саламура (П48-П63 саламура од пролетното производство, Е44-Е50 саламура од есенското производство) се прикажани во табелата 25. Повторно, сите изолати беа оценети за активности на липаза и на протеаза, производство на EPS и за присуство на генот *hdcA*.

Табела 25: Идентификација и карактеризација на млечнокисели бактерии изолирани од млеко, сирење и од саламура

Изолат	Најблиск сроден вид	% Идентичност <sup>1</sup>	Активност на липаза*	Активност на протеаза*	Ген <i>hdcA</i>	EPS**	
						зависно од сахароза	независно од сахароза
П1	<i>Lactococcus lactis</i>	100,00 %	-	+	-	-	-
П2	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	100,00 %	-	+	-	-	-
П3	<i>Lactococcus lactis</i>	98,96 %	+	+	-	М	-
П4	<i>Carnobacterium gallinarum</i>	98,81 %	+	+	-	М	-
П5	<i>Enterococcus mundtii</i>	99,29 %	-	+	-	М	-
П6	<i>Lactococcus cremoris</i>	99,74 %	-	+	-	-	-
П7	<i>Lactococcus cremoris</i>	99,57 %	-	+	-	-	-
П8	<i>Enterococcus faecium</i>	99,64 %	+	+	-	-	-
П9	<i>Marinilactibacillus psychrotolerans</i>	99,80 %	-	+	-	-	-
П10	<i>Marinilactibacillus psychrotolerans</i>	99,51 %	+	+	-	-	-
П11	<i>Enterococcus faecium</i>	99,38 %	+	+	-	-	-
П12	<i>Enterococcus faecium</i>	99,26 %	+	+	-	-	-
П13	<i>Enterococcus faecium</i>	99,72 %	+	++	-	-	-
П14	<i>Enterococcus faecalis</i>	99,90 %	+	++	-	-	-
П15	<i>Enterococcus faecium</i>	99,41 %	-	++	-	-	-
П16	<i>Enterococcus faecium</i>	99,77 %	-	+	-	-	-
П17	<i>Enterococcus faecium</i>	99,64 %	-	+	-	-	-
П18	<i>Enterococcus faecium</i>	99,16 %	+	+	-	-	-
П19	<i>Enterococcus faecium</i>	99,91 %	+	+	-	-	-
П20	<i>Enterococcus faecalis</i>	99,22 %	-	+	-	-	-
П21	<i>Enterococcus faecalis</i>	98,87 %	-	+	-	-	-
П22	<i>Enterococcus faecium</i>	98,94 %	-	+	-	-	-
П23	<i>Enterococcus faecium</i>	98,84 %	-	+	-	-	-
П24	<i>Enterococcus faecium</i>	99,63 %	-	+	-	-	-
П25	<i>Enterococcus faecium</i>	98,93 %	-	+	-	-	-
П26	<i>Enterococcus durans</i>	99,33 %	-	+	-	-	-
П27	<i>Enterococcus faecium</i>	98,91 %	-	+	-	-	-
П28	<i>Enterococcus faecium</i>	99,53 %	-	+	-	-	-
П29	<i>Enterococcus faecium</i>	99,26 %	-	+	-	-	-
П30	<i>Enterococcus durans</i>	98,83 %	-	+	-	-	-
П31	<i>Enterococcus faecium</i>	99,84 %	+	+	-	+	-

Докторска дисертација: „Микробна динамика и карактеризација на автохтони млечнокисели бактерии во традиционално произведено бело саламурено козјо сирење“

П32	<i>Enterococcus durans</i>	99,03 %	-	+	-	-	-
П33	<i>Enterococcus durans</i>	99,03 %	-	+	-	-	-
П34	<i>Enterococcus lactis</i>	99,56 %	-	+	-	-	-
П35	<i>Enterococcus durans</i>	99,72 %	-	+	-	-	-
П36	<i>Enterococcus faecium</i>	98,80 %	-	+	-	-	-
П37	<i>Enterococcus durans</i>	99,72 %	-	+	-	-	-
П38	<i>Enterococcus durans</i>	98,84 %	-	+	-	-	-
П39	<i>Enterococcus faecium</i>	99,37 %	-	+	-	-	-
П40	<i>Enterococcus faecium</i>	99,09 %	-	+	-	-	-
П41	<i>Levilactobacillus brevis</i>	98,97 %	-	+	-	-	-
П42	<i>Levilactobacillus brevis</i>	99,45 %	-	+	-	-	-
П43	<i>Marinilactibacillus psychrotolerans</i>	99,26 %	-	-	-	-	-
П44	<i>Enterococcus faecium</i>	99,29 %	-	+	-	-	-
П45	<i>Enterococcus faecium</i>	99,03 %	-	+	-	-	-
П46	<i>Enterococcus lactis</i>	99,05 %	+	+	-	-	-
П47	<i>Enterococcus faecium</i>	99,25 %	-	+	-	-	-
П48	<i>Enterococcus faecium</i>	99,58 %	-	+	-	-	-
П49	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	99,23 %	-	+	-	M	-
П50	<i>Enterococcus faecium</i>	99,77 %	+	+	-	-	-
П51	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	99,87 %	-	-	-	M	-
П52	<i>Marinilactibacillus psychrotolerans</i>	99,26 %	-	+	-	-	-
П53	<i>Enterococcus faecium</i>	99,58 %	+	+	-	-	-
П54	<i>Enterococcus faecium</i>	99,33 %	-	+	-	-	-
П55	<i>Enterococcus faecium</i>	99,35 %	+	+	-	-	-
П56	Група <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	99,52 %	-	+	-	-	-
П57	Група <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	99,28 %	-	+	-	-	-
П58	<i>Levilactobacillus brevis</i>	99,77 %	-	+	-	-	-
П59	<i>Marinilactibacillus psychrotolerans</i>	99,17 %	-	+	-	-	-
П60	<i>Enterococcus faecium</i>	99,20 %	+	++	-	-	-
П61	<i>Enterococcus faecalis</i>	99,54 %	+	+	-	-	-
П62	<i>Enterococcus faecalis</i>	98,91 %	-	-	-	-	-
П63	<i>Enterococcus faecium</i>	98,97 %	+	+	-	-	-
E1	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	98,81 %	-	+	-	-	-
	<i>Enterococcus viikkiensis</i>	98,81 %	-	-	-	-	-
E2	<i>Lactococcus lactis</i>	99,77 %	+	+	-	-	-
E3	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	100,00 %	-	++	-	-	-
	<i>Enterococcus viikkiensis</i>		-	-	-	-	-
E4	<i>Enterococcus pingfangensis</i>	99,83 %	+	++	-	-	-
	<i>Enterococcus xiangfangensis</i>		-	-	-	-	-
E5	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	97,36 %	+	++	-	-	-
	<i>Enterococcus viikkiensis</i>		-	-	-	-	-

Докторска дисертација: „Микробна динамика и карактеризација на автохтони млечнокисели бактерии во традиционално произведено бело саламурено козјо сирење“

E6	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	99,50 %	+	++	-	-	-
	<i>Enterococcus viikkiensis</i>						
E7	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	97,73 %	+	++	-	-	-
	<i>Enterococcus viikkiensis</i>						
E8	<i>Lactococcus lactis</i>	99,31 %	+	+	-	-	-
	<i>Lactococcus lactis</i>						
E9	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	99,13 %	++	++	-	-	-
	<i>Enterococcus viikkiensis</i>						
E10	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	99,18 %	++	++	-	-	-
	<i>Enterococcus pseudoavium</i>						
	<i>Enterococcus devriesei</i>						
E11	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	99,34 %	+	+	-	-	-
	<i>Enterococcus devriesei</i>						
E12	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	97,39 %	+++	++	-	-	-
	<i>Enterococcus devriesei</i>						
E13	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	99,00 %	-	++	-	-	-
	<i>Enterococcus viikkiensis</i>						
E14	<i>Enterococcus italicus</i>	98,21 %	+	+	-	-	-
E15	<i>Enterococcus italicus</i>	96,58 %	+	+	-	-	-
E16	<i>Enterococcus italicus</i>	97,10 %	+	+	-	-	-
E17	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	98,98 %	++	++	-	-	-
	<i>Enterococcus viikkiensis</i>						
E18	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	97,47 %	++	++	-	-	-
	<i>Enterococcus pseudoavium</i>						
	<i>Enterococcus devriesei</i>						
E19	<i>Enterococcus italicus</i>	97,44 %	++	++	-	-	-
E20	<i>Enterococcus innesii</i>	97,50 %	+	++	-	-	-
	<i>Enterococcus gallinarum</i>						
E21	<i>Enterococcus faecium</i>	97,09 %	+	+	-	-	-
E22	Група <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	100,00 %	-	+	-	-	-
E23	<i>Enterococcus durans</i>	97,55 %	+	+	-	-	-
E24	<i>Enterococcus faecium</i>	98,09 %	+	+	-	-	-
	<i>Enterococcus durans</i>						
E25	Група <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	98,69 %	++	+	-	-	-
E26	<i>Enterococcus durans</i>	99,14 %	++	+	-	-	-
E27	<i>Levilactobacillus brevis</i>	98,64 %	+++	+	-	-	-

Докторска дисертација: „Микробна динамика и карактеризација на автохтони млечнокисели бактерии во традиционално произведено бело саламурено козјо сирење“

E28	<i>Companilactobacillus alimentarius</i>	96,89 %	+	+	+	-	-
E29	<i>Enterococcus italicus</i>	97,98 %	+	+	-	-	-
E30	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	97,67 %	-	++	-	-	-
	<i>Enterococcus devriesei</i>						
E31	<i>Enterococcus italicus</i>	99,66 %	+	+	-	-	-
E32	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	99,18 %	-	+	-	-	-
	<i>Enterococcus devriesei</i>						
E33	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	97,27 %	++	++	-	-	-
	<i>Enterococcus viikkiensis</i>						
E34	<i>Enterococcus italicus</i>	97,40 %	++	++	-	-	-
E35	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	97,85 %	++	++	-	-	-
	<i>Enterococcus devriesei</i>						
E36	<i>Enterococcus faecium</i>	97,51 %	+	+	-	-	-
	<i>Enterococcus durans</i>						
E37	<i>Enterococcus faecium</i>	99,01 %	+	+	-	-	-
E38	<i>Enterococcus faecium</i>	98,00 %	+	+	-	-	-
	<i>Enterococcus durans</i>						
E39	<i>Enterococcus faecium</i>	99,34 %	+	+	-	-	-
E40	<i>Enterococcus pingfangensis</i>	100,00 %	++	+	-	-	-
	<i>Enterococcus xiangfangensis</i>						
E41	<i>Enterococcus faecium</i>	97,01 %	++	+	-	-	-
E42	<i>Enterococcus faecium</i>	97,10 %	++	+	-	-	-
E43	<i>Enterococcus lactis</i>	99,33 %	++	+	-	-	-
E44	<i>Lactococcus lactis</i>	99,48 %	+	++	-	-	-
E45	<i>Lactococcus lactis</i>	98,52 %	+	++	-	-	-
E46	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	98,93 %	++	++	-	-	-
	<i>Enterococcus devriesei</i>						
E47	<i>Lactococcus lactis</i>	99,39 %	++	+	-	-	-
E48	<i>Lactococcus lactis</i>	98,68 %	++	+	-	-	-
E49	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	99,00 %	++	+	-	-	-
E50	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	99,31 %	++	+	-	-	-

<sup>1</sup>Процент на идентични нуклеотиди во секвенцијата добиена од бактериските изолати и во секвенцијата на најблискиот роднина пронајден во базата на податоци GenBank.

\*-, негативен; +, позитивен (1 mm хало); ++, позитивен (1-2 mm хало); +++, позитивен (> 2 mm хало).

\*\* М, мукоидни колонии.

Црвено – изолати од млеко; Сино – изолати од саламура.

Вкупно, 113 изолати беа добиени од примероци од саламура и од сирење. Тие вклучија 8 култури кои најблиско се поврзани со *Lactococcus lactis*, 3 со *Leuconostoc mesenteroides*, 1 со *Carnobacterium gallinarum*, 1 со *Enterococcus mundtii*, 2 со *Lactococcus cremoris*, 35 со *E. faecium*, 3 со *E. faecium/Enterococcus durans*, 5 со *Marinilactibacillus*

*psychrotolerans*, 5 со *E. faecalis*, 9 со *E. durans*, 3 со *Enterococcus lactis*, 8 со *Enterococcus pseudoavium/Enterococcus devriesei*, 9 со *E. pseudoavium/Enterococcus viikkiensis*, 7 со *Enterococcus italicus*, 1 со *Enterococcus innesii/Enterococcus gallinarum*, 4 со групата *Lactiplantibacillus plantarum*, 4 со *Levilactobacillus brevis*, 1 со *Companilactobacillus alimentarius*, 2 со *E. pingfangensis/E. xiangfangensis*, 2 со *Lacticaseibacillus paracasei* subsp. *tolerans*.

Детекцијата на повеќе видови во сирењето и во саламурата, кои истовремено беа присутни и во производната средина, укажува на можност за вкрстена контаминација помеѓу површините за обработка, суровините и финалните производи. Ова преклопување ги потврдува претходните забелешки дека микробниот трансфер се одвива низ целиот производствен синџир, влијаејќи како врз технолошките перформанси, така и врз стабилноста на микробната заедница во занаетчиското козјо сирење. Иако неколку таксони, вклучувајќи ги *Levilactobacillus brevis*, *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. durans*, *E. pingfangensis/E. xiangfangensis*, *Pediococcus pentosaceus* и *Lactiplantibacillus parapantarum*, беа изолирани од двата извора, нивните технолошки својства и еколошки улоги веќе детално беа разгледани. Затоа, тука, вниманието е насочено кон другите видови, кои се присутни исклучиво или таксономски се различни во колекцијата добиена од саламура и од сирење за да се обезбеди појасно разбирање на нивниот специфичен придонес во ферментативната динамика и во процесите на зреење, кои се карактеристични за традиционалното производство на козјо сирење.

Изолатите на ентерококи се истакнаа како една од главните микробни групи, што ја потврдува согласноста со податоците добиени од примероците од животната средина. Меѓу нив, идентификуван е еден изолат тесно поврзан со *E. mundtii*, вид кој претходно е изолиран од жолто сирење (Farías et al., 1996) и успешно е применет како антилистеријална култура во свежо сирење Minas (Vera Pingitore et al., 2012). Дополнително, бактериоциногениот *E. mundtii* бил детектиран и во сурово козјо млеко од Словачка (Lauková et al., 2020), што ја потврдува неговата приспособливост кон различни млечни екосистеми.

Во рамките на оваа студија, испитаниот изолат не покажа активност на липаза, но демонстрираше значителна активност на протеаза. Дополнително, изолатите на *E. mundtii* формираа мукоидни колонии во медиум кој содржи сахароза, што ја потврдува нивната способност за синтеза на EPS, слично на претходните наоди на Валејо и соработниците (Vallejo et al., 2018).

Во оваа студија, *E. lactis* беше детектиран во примероците од сирење, што е во согласност со претходни извештаи за присуство на овој вид во сирење од сурово млеко (Fu et al., 2022). Покрај тоа, пробиотски соеви на *E. lactis* се познати по способноста да произведуваат бактериоцини со потенцијална заштитна улога во прехранбените производи (Tadesse et al., 2024). Од трите изолати испитани во рамките на ова истражување, два покажаа активност на липаза, што се поклопува со наодите на Моранди и соработниците (Morandi et al., 2013), кои пријавиле ниска липолитичка активност кај соеви изолирани од сирење од сурово млеко Bitto PDO. Слично на тоа, протеолитичката активност на овие изолати, иако ниска, е во согласност со податоците за други ентерококни видови (Sarantinopoulos et al., 2001), вклучително и со резултатите добиени во оваа студија. Производство на EPS не беше забележано кај ниту еден од

изолатите на *E. lactis*, што укажува на ограничено влијание врз текстурата на финалниот производ.

Што се однесува до *E. italicus*, овој вид претходно е откриен во турско бело сирење (İspirli et al., 2017) и неодамна беше идентификуван и во микробиотата на традиционалното биено сирење во Северна Македонија (Josifovska et al., 2024). Сите изолати испитани во оваа студија покажаа активност на липаза, што е во согласност со податоците од Кардинали и соработниците (Cardinali et al., 2025) за *E. italicus* изолирана од сирење направено од сурово козјо млеко. Дополнително, овие изолати демонстрираа протеолитичка активност, но производството на EPS не беше забележано кај ниту еден од испитаните изолати.

Недвосмислена молекуларна идентификација на изолатите *E. pseudoavium*/*E. devriesei* и *E. pseudoavium*/*E. viikkiensis* не беше постигната, најверојатно поради тесните филогенетски врски меѓу овие видови (Švec et al., 2005; Li et al., 2014). Забележливо е дека *E. devriesei* претходно е изолиран од сирењата Cueva de la Magahá и Torta Arochena, произведени од козјо млеко (Martín-Platero et al., 2009b). *E. pseudoavium* е пријавен и од сурутка користена како стартер-култура за занаетчиско сирење Minas (Castro et al., 2016), додека *E. viikkiensis* е откриен во овчо млеко (Darkevicius et al., 2021). Во рамките на оваа студија, повеќето изолати демонстрираа активност на липаза, додека сите покажаа протеолитичка активност, но производството на EPS не беше забележано кај ниту еден од испитаните изолати.

*E. innesii* и *E. gallinarum* се филогенетски тесно сродни видови (Gooch et al., 2021), што не овозможи нивна недвосмислена таксономска диференцијација врз основа на применетата молекуларна анализа. Видот *E. innesii* релативно неодамна е опишан и првично изолиран од восочниот молец *Galleria mellonella* (Gooch et al., 2021), додека *E. gallinarum* претходно е детектиран во сирењето Casciocavallo Palermitano (Guarrasi et al., 2017), што укажува на негово присуство во млечни матрици. Изолатот демонстрираше активност на липаза и на протеза, додека синтеза на EPS не беше евидентирана.

Во рамките на оваа студија, повеќе изолати на *Lactococcus lactis* демонстрираа активност на липаза. Слични наоди се пријавени и во литературата; Ју и соработниците (Yu et al., 2025) покажаа дека пробиотски сој на *L. lactis* со липолитички капацитет влијаел врз производството на павлака од сурово кравјо млеко преку модификација на профилот на масни киселини и на рН-вредноста, што резултирало со изразени промени во сензорните својства. Познато е дека *L. lactis* може да хидролизира липиди со помош на екстрацелуларни и на интрацелуларни липази, при што се ослободуваат масни киселини и глицерол. Дополнително, овој вид е способен да ги трансформира масните киселини преку реакции како сатурација, хидратација, дехидрација и изомеризација (Акрогхелие et al., 2025), што може да има значајно влијание врз ароматичниот профил на сирењето.

Сите анализирани изолати на *L. lactis* покажаа активност на протеаза, што претставува важна технолошка карактеристика. Преку хидролиза на млечните протеини за време на ферментацијата, овој вид придонесува за ослободување слободни аминокиселини и пептиди, кои се прекурсори на ароматични соединенија и директно учествуваат во формирањето на вкусот (Zhao et al., 2025b). Дополнително, протеолитичкиот капацитет на *Lactococcus lactis* изолирани од сурово козјо млеко и

козји сирења е веќе документиран во литературата. На пример, повеќе студии пријавуваат дека изолати на *L. lactis* и *L. lactis* subsp. *lactis* добиени од сурово козјо млеко и од традиционални козји сирења покажуваат изразена активност на протеаза и способност за хидролиза на казеин, што директно е поврзано со акумулација на слободни аминокиселини и со развој на ароматичниот профил (Cheriguene et al., 2006; Tulini et al., 2016; Perin et al., 2017; Grujović et al., 2024)

Во однос на синтезата на егзополисахариди, само еден од осумте изолати формираше мукоидни колонии, што укажува на способност за продукција на EPS. Според Шарма и соработниците (Sharma et al., 2024), EPS од *L. lactis* може да поседува антиоксидантни, антитуморски, антибактериски и имуномодулаторни својства, а истовремено покажува и значајни технолошки ефекти, како што се подобро емулгирање и зголемена способност за задржување вода.

Меѓу изолираните лактококи беа детектирани и соеви тесно сродни со *Lactococcus cremoris*. Овој микроорганизам, кој неодамна беше издвоен како посебен вид по својата прекласификација од *L. lactis* subsp. *cremoris* (Li et al., 2021), се смета за значаен технолошки микроорганизам во млечната индустрија. Неговата способност за продукција на ацетоин и на диацетил директно е поврзана со формирање карактеристични путерни ноти, со што се унапредува ароматичниот и целокупниот сензорен профил на сирењето (Taria et al., 2025).

Во рамките на ова истражување, двата изолати идентификувани како *L. cremoris* покажаа исклучиво активност на протеаза, додека активност на липаза и синтеза на EPS не беа детектирани. Протеолитичките соеви на *L. cremoris* веќе се испитувани како помошни култури во експериментално производство на сирење, при што е забележано зголемување на концентрацијата на слободни аминокиселини, вклучувајќи глутаминска киселина, аспарагин, серин, глутамин и цитрулин како и формирање поцврста структура на сирењето (Vørsting et al., 2015). Овие податоци се во согласност со резултатите добиени во оваа студија и дополнително ја нагласуваат технолошката релевантност на овој вид во контекст на зреењето и развојот на квалитетот на сирењето.

Во текот на изолацијата беа идентификувани само три соеви тесно сродни со *Leuconostoc mesenteroides*. Овој наод е во согласност и со извештајот на Коломбо и соработниците (Colombo et al., 2010), кои регистрирале релативно мал број изолати од овој хетероферментативен вид во занаетчиско италијанско козјо сирење, што укажува на негово ограничено, но конзистентно присуство во традиционалните млечни екосистеми.

Во однос на ензимскиот профил, ниту еден од испитаните изолати не покажа липолитичка активност, додека два од трите соеви беа позитивни за активност на протеаза. Протеолитички соеви на *L. mesenteroides* се документираны и во сирењето Pecorino di Filiano (Bonomo & Salzano, 2013). Протеолитичката активност кај леуконостоците е поврзана со формирањето различни метаболити, вклучувајќи лактат, ацеталдехид и ацетат, соединенија што придонесуваат за комплексноста на аромата и го поддржуваат нивното користење како млечнокисели нестартер-бактерии во улога на помошни култури (Sharma et al., 2024).

Дополнително, два од трите изолати формираа мукоидни колонии, што индицира синтеза на егзополисахариди. Ова својство е типично за *L. mesenteroides*, вид познат по

продукција на различни типови полисахариди, како што се алтернан, фруктани, декстран и глукан- или леван-тип EPS (Sharma et al., 2024).

Иако податоците за *Carnobacterium gallinarum* сè уште се ограничени, овој вид на млечнокисела бактерија претходно е документиран во месо и во рибни производи (Leisner et al., 2007), што укажува на можност за внесување преку вкрстена контаминација во процесот на производство на сирење. Во рамките на анализираните примероци, метатаксономската анализа откри присуство на ASVs кои припаѓаат на фамилијата *Carnobacteriaceae*, што го сугерира потенцијално значајното учество на оваа фамилија во микробниот екосистем на сирењето. Ова сознание ја истакнува потребата за подлабоки истражувања насочени кон разбирање на функцијата и на придонесот на *Carnobacteriaceae* во процесите на ферментација и на зреење.

Во оваа студија, испитаниот изолат на *C. gallinarum* покажа активност на липаза и на протеаза. Дополнително, колониите на изолатот формираа мукоиден изглед при одгледување агар на MRS дополнет со сахароза, што го индицира производството на хомополисахариди (HoPS).

Меѓу претставници на фамилијата *Carnobacteriaceae*, пет изолати тесно поврзани со *Marinilactibacillus psychrotolerans* беа идентификувани од примероци од саламура и од сирење. Овој вид млечнокисели нестартер-бактерии претходно е документиран во површински зреено меко сирење (Suzuki et al., 2021) и во сирења од типот Raclette (Roth et al., 2011). *M. psychrotolerans* е халофилна и алкалофилна бактерија, добро приспособена на услови со висока содржина на сол (Ishikawa et al., 2003), што ја објаснува нејзината конзистентна појава во саламурата и во анализираните сирења.

Претходни истражувања укажуваат на тоа дека *M. psychrotolerans* може да произведува инхибиторни соединенија против *Listeria monocytogenes* (Montel et al., 2014), што сугерира дека овие изолати можат да имаат потенцијална улога како бактериоциногени култури во рамките на млечните производи. Во оваа студија, од петте изолати, еден покажа активност на липаза, додека четири од пет изолати демонстрираа протеолитички потенцијал. Ограничените информации во научната литература спречуваат директно споредување на овие наоди, сепак, резултатите од оваа студија го збогатуваат тековното разбирање на ензимските својства на *M. psychrotolerans* во контекст на млечни производи. Интересно е што ниту еден од изолатите не демонстрираше производство на егзополисахариди (EPS).

Групата *Lactiplantibacillus plantarum* обединува видови со висока генетска и фенотипска сличност, вклучувајќи *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum*, *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *argenteratensis*, *Lactiplantibacillus paraplantarum* и *Lactiplantibacillus pentosus* (Kim et al., 2021). Во рамките на оваа студија беа изолирани четири култури тесно поврзани со оваа група. Претставници на групата *L. plantarum* како млечнокисели нестартер-бактерии претходно се пронајдени во сирења од козјо млеко произведени на фарма, што го потврдува нивното повторливо присуство во традиционални млечни производи (Lavilla-Lerma et al., 2013).

Од испитаните изолати, само еден демонстрираше активност на липаза, што е во согласност со претходни извештаи кои укажуваат на повремениот липолитичка способност на соевите од оваа група (Uppada et al., 2017). Сите изолати покажаа активност на протеаза, што ја потенцира нивната способност да хидролизират млечни

протеини и да придонесат за развој на вкусот на сирењето преку ослободување на слободни аминокиселини и формирање на испарливи соединенија (Şahingil et al., 2026). Претходно изолати на *Lactiplantibacillus plantarum* со протеолитичка активност се пронајдени во козјо сирење од сурово млеко и во традиционално козјо сирење од Србија (Silva et al., 2023; Grujović et al., 2024).

Во рамките на оваа студија беше идентификуван само еден изолат тесно поврзан со *Companilactobacillus alimentarius*. Претходни извори укажуваат на тоа дека овој вид е изолиран од зрело традиционално сирење *sourk* од регионот на Блискиот Исток, вклучувајќи делови од Турција, Сирија, Либан и пошироко, како што пријавиле Есен и Четин (Esen & Çetin, 2021). Изолатот испитан овде покажа активност на липаза, што е во согласност со набљудувањата на Ди Кањо и соработниците (Di Cagno et al., 2006), кои пријавија активност на естераза за *Lactobacillus alimentarius* кога се користеше како помошна култура во минијатурно сирење *Caciotta*. Покрај тоа, изолатот демонстрираше активност на протеаза, што е во согласност со претходните извештаи за активност на аминокиселиназа кај овој вид (Di Cagno et al., 2006). Производството на EPS не беше забележано кај овој изолат.

Сепак, испитаниот сој на *Companilactobacillus alimentarius* беше единствениот што покажа присуство на генот *hdcA*, кој е поврзан со синтеза на хистамин. Овој наод ја ограничи потенцијалната употреба на изолатот како помошна култура поради безбедносни причини, укажувајќи на потребата за внимателен избор на култури во процесот на производство на сирење.

Два изолати тесно поврзани со *Lactocaseibacillus paracasei* subsp. *tolerans* беа идентификувани од саламурата. *Lactocaseibacillus paracasei* претходно беше документиран како една од доминантните млечнокисели бактерии во традиционалните ферментирани млечни производи од Централна Азија, вклучувајќи *shubat*, *chal* и *khoortmog* (Konuspayeva et al., 2023). И двата изолати во оваа студија покажаа активност на липаза, иако литературата за липолитичкиот потенцијал на subsp. *tolerans* е ограничена, што отежнува директно споредување. Во однос на протеазната активност, двата изолати беа позитивни, што се совпаѓа со претходни набљудувања за висок протеолитички капацитет на subsp. *tolerans* во јогуртот (Özdemir, 2023).

Со дополнителен преглед на безбедносните маркери, освен изолатот на *Companilactobacillus alimentarius*, ниту една од културите добиени од примероци од животната средина, млеко, сирење или од саламура не покажаа присуство на генот *hdcA*, што го потврдува нивниот потенцијал за безбедна употреба како почетни или помошни култури во млечната индустрија.

Во рамките на ова истражување, 8 изолати на *E. faecium* (5 од саламура и 3 од сирењето произведено во пролет од првата серија на ден 0) покажаа антимикробна активност кон *Listeria innocua*. Антимикробната активност претставува значаен безбедносен и технолошки критериум при селекцијата на млечнокисели бактерии како starter или како помошни култури, бидејќи одредени изолати имаат способност да синтетизираат антимикробни пептиди наречени бактериоцини со инхибиторно дејство врз патогени и врз расипувачки микроорганизми (Stevens et al., 1991; Arqués et al., 2015). Во литературата, соеви од родовите *Lactococcus* и *Enterococcus* честопати се наведуваат како производители на бактериоцини. Сепак, продукцијата на бактериоцини е строго

сој-зависна и е под влијание на генетски и на еколошки фактори (Honrada Perez et al., 2022), што може да го објасни отсуството на инхибиторен ефект под применетите експериментални услови.

#### 4.5. Сензорна анализа на традиционалното козјо сирење

Локално произведените традиционални производи генерално позитивно се перципирани од потрошувачите, иако фактори како носталгија, етноцентризам и потребата за автентичност можат да влијаат врз преференциите; сепак, сетилните карактеристики остануваат главен двигател на одлуките за купување и на севкупната прифатливост. Кај сирењата, овие сетилни својства се обликуваат од околините и од технолошките фактори, при што исхраната на млечните животни има клучна улога во одредувањето на составот на млекото, што, пак, влијае врз квалитетните карактеристики на крајниот производ (Serrapica et al., 2020). Кај зреените сирења, сензорниот профил е резултат на комплексна интеракција помеѓу автохтоната микробиота, составот на млекото и условите на зреење (Awad & Abdou, 2024). Поради тоа, сензорната анализа на крајот на зреењето е од особено значење, бидејќи во оваа фаза се манифестираат финалните карактеристики на вкусот, аромата и на текстурата, кои ја рефлектираат вкупната биохемиска активност за време на зреењето (McSweeney, 2004; Fox et al., 2017a).

Оценките од сензорната евалуација на сирењата произведени во пролет и во есен се прикажани во табелата 26 и на сликата бр. 17.

Табела 26: Средни сензорски оценки ( $\pm$  SD) на бело саламурено козјо сирење и  $p$ -вредности за ефектите на сезоната, серијата и на интеракцијата сезона  $\times$  серија

Параметар	Пролет (средна вредност $\pm$ стандардна девијација)	Есен (средна вредност $\pm$ стандардна девијација)	Главен ефект на сезона ( $p$ )	Главен ефект на серија ( $p$ )	Интеракција сезона $\times$ серија ( $p$ )
<b>Изглед</b>	19,38 $\pm$ 0,20	18,13 $\pm$ 0,29	0,005	0,668	0,423
<b>Конзистентност</b>	33,75 $\pm$ 0,42	32,90 $\pm$ 0,59	0,076	0,368	0,801
<b>Мирис</b>	29,38 $\pm$ 0,37	23,15 $\pm$ 0,35	<0,001	0,914	0,969
<b>Вкус</b>	19,85 $\pm$ 0,10	16,85 $\pm$ 0,16	<0,001	0,674	1,000

Сензорската евалуација на козјото сирење произведено во пролет и во есен покажа јасно изразено сезонско влијание врз повеќето оценувани параметри, додека серијата (денот на производство) и интеракцијата помеѓу сезоната и серијата не покажаа статистички значајни разлики.

Во однос на различните сензорски својства, беа забележани следниве разлики:

- Изглед:

Сирењата произведени во пролет имаа повисоки оценки (19,38  $\pm$  0,20) во споредба со есенските (18,13  $\pm$  0,29), при што е утврдена значајна разлика ( $p =$

0,005). Ова укажува на тоа дека пролетните сирења имале поповолен визуелен изглед.

- Конзистентност:

Разликата помеѓу сезоните не е статистички значајна ( $p = 0,076$ ). Средните вредности се  $33,75 \pm 0,42$  за пролет и  $32,90 \pm 0,59$  за есен, што укажува на тоа дека текстурата останала релативно стабилна без оглед на сезоната.

- Мирис:

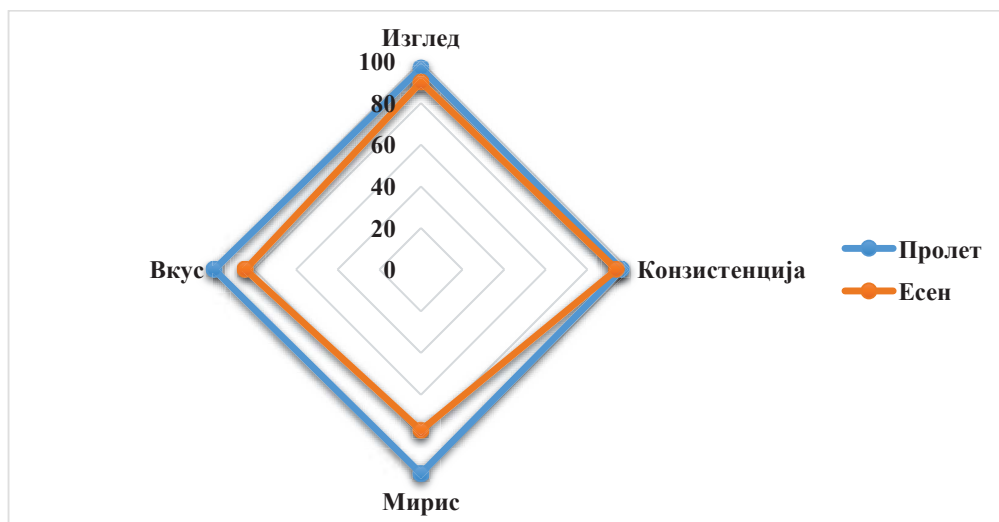
Забележана е високо значајна разлика ( $p < 0,001$ ), при што пролетните сирења ( $29,38 \pm 0,37$ ) добиле повисоки оценки во однос на есенските ( $23,15 \pm 0,35$ ). Ова укажува на силно влијание на сезоната врз ароматичните својства на сирењето.

- Вкус:

И кај вкусот е утврдена високо значајна разлика ( $p < 0,001$ ), со повисоки оценки кај пролетните сирења ( $19,85 \pm 0,10$ ) во однос на есенските ( $16,85 \pm 0,16$ ). Ова потврдува дека сезоната има доминантно влијание врз развојот на вкусните соединенија.

Во целина, сезоната претставува главен фактор кој влијае врз сензорскиот квалитет на белото саламурено козјо сирење, додека денот на производство и интеракцијата со сезоната немаат значајно влијание.

Овие разлики резултираа со значително повисока вкупна сензорна оценка за пролетното сирење (102,36, односно 97,48 % од максималната вредност) во споредба со есенското сирење (91,03, односно 86,69 % од максималната вредност).



Слика бр. 17: Резултати од сензорната евалуација на сирењата: графичка споредба помеѓу пролет и есен (% од максималната вредност)

Овој резултат во голема мера може да се припише на сезонските варијации во исхраната на животните, особено на достапноста на свежи пасишта во текот на пролетта. Неколку студии известуваат дека пролетните и ранолетните пасишта придонесуваат за подобрен состав на млекото, со повисоки нивоа на незаситени масни киселини и терпени, кои се поврзани со подобрен развој на вкусот и на аромата кај сирењето (Martin et al., 2005). Ова е во согласност со нашите наоди, каде што најголема сезонска разлика

беше забележана кај мирисот и вкусот: 29,38 наспроти 23,15 за мирис и 19,85 % наспроти 16,85 % за вкус, кај пролетното и кај есенското сирење, соодветно.

Понатаму, високата вкупна прифатливост на пролетното сирење (97,48 %) укажува на изразена преференција кон сирењата произведени во периоди на активно пасење. Наспроти тоа, кај есенското сирење, произведено во период кога животните најчесто се хранат со сочувана сточна храна како сено или силажа, може да недостасува иста ароматична комплексност и свежина, како што е наведено и од Биго и соработниците (Bugaud et al., 2001). Овие разлики во исхраната влијаат врз биохемискиот состав на млекото и, последователно, врз процесот на зреење на сирењето, што доведува до разлики во текстурата и во развојот на вкусот (McSweeney & Sousa, 2000).

Сензорните својства на сирењето се под влијание на повеќе фактори, вклучувајќи ги генетиката на животните, средината во која се произведува млекото, технологијата на преработка, како и хемиските и микробиолошките карактеристики на користените суровини. Овие фактори може да ја објаснат разликата во вредностите добиени при сензорната анализа на добиеното козјо сирење во споредба со вредностите пријавени во други истражувања (Hayaloglu et al., 2013; Sezen Demirci, 2012; Miloradovic et al., 2021), каде што беа забележани пониски оценки при сензорната анализа на козјо сирење.

Овие наоди ја нагласуваат важноста на сезонското следење во производството на традиционално сирење и можат да помогнат во развивањето стратегии за оптимизација на квалитетот.

#### **4.6. Ставови на потрошувачите кон козјото млеко и производите од козјо млеко**

Во рамките на оваа студија, беше спроведена анкета за да се добие поширок контекст за ставовите, навиките и за перцепциите на потрошувачите кон козји млечни производи во Република Северна Македонија. Иако главната цел на докторската дисертација беше проучување на микробната динамика, изолацијата и на карактеризацијата на автохтони млечнокисели бактерии, овие податоци обезбедуваат дополнителен увид во побарувачката, прифатливоста и во факторите кои влијаат врз консумацијата на производи од козјо млеко. Слични податоци се наведени во претходни истражувања како студијата на Петровска и соработниците (Petrovska et al., 2017) кои покажа дека 70 % од испитаниците во регионот Пелагонија сметаат дека на пазарот има малку козји млечни производи, укажувајќи на ограничена понуда. Прегледот на секторот поврзан со одгледување кози и со производство на козји производи во земјава укажува на умерено производство на сурово козјо млеко и на пониски откупни цени споредено со ЕУ, што може да ги намалува конкурентноста и развојот на пазарот (Porchu & Dzabirski, 2020), а анализата на состојбата и на перспективите на козјото сточарство укажува на потреба од подобрување на производството за зголемување на понудата на козји производи (Eftimova et al., 2022).

Во табелата 27 е прикажан социодемографскиот профил на анкетираната популација. Поголемиот дел од испитаниците беа жени, кои сочинуваа 65.75 % (263 лица), додека мажите претставуваа 34.25 % (137 лица).

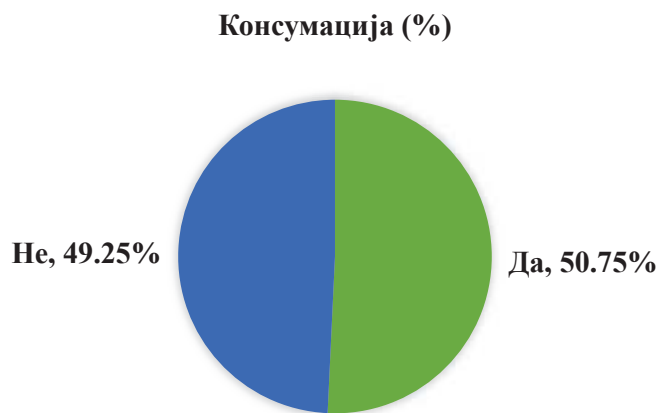
Табела 27: Социодемографски профил на анкетираната популација (n = 400)

Параметри	Фреквенција (n)	Проценти (%)
<b>Пол</b>		
Жени	263	65,75
Мажи	137	34,25
<b>Возраст</b>		
18-29	200	50
30-39	83	20,75
40-49	69	17,25
50-59	35	8,75
60+	13	3,25
<b>Регион на живеење</b>		
Скопски Регион	52	13
Источен Регион	6	1,50
Југоисточен Регион	4	1
Североисточен Регион	8	2
Пелагониски Регион	11	2,75
Вардарски Регион	20	5
Југозападен Регион	15	3,75
Полошки Регион	258	64,50
Друго	26	6,50
<b>Место на живеење</b>		
Урбано место (>100 000 жители)	45	11,25
Град (50 001-100 000 жители)	107	26,75
Град (10 000-50 000 жители)	61	15,25
Село (<10 000 жители)	187	46,75
<b>Ниво на образование</b>		
Основно училиште	4	1
Средно училиште	100	25
Прв циклус	159	39,75
Магистратура	71	17,75
Докторат	66	16,50
<b>Вработеност</b>		
Вработен (универзитет, прехранбена индустрија, центар за нутриционизам, земјоделство)	115	28,75
Вработен (друга дисциплина)	110	27,50
Студент (прехранбена технологија, нутриционизам, земјоделство)	27	6,75
Студент (друга дисциплина)	108	27
Невработен	40	10

Истражувањето опфати репрезентативен примерок од 400 испитаници, од кои најголем дел беа на возраст од 18 до 29 години (50 %), проследено со 20,75 % на возраст 30-39. Според регионот на живеење, највисок процент на испитаници потекнуваа од Полошкиот Регион (64,50 %), проследен со Скопскиот Регион (13 %).

Разлики беа забележани и во типот на местото на живеење (село, град и урбано место), нивото на образование (основно, средно училиште, прв циклус на студии, магистерски и докторски студии) и во статусот на вработеност (вработен, невработен, студент). Ова овозможи застапеност на поширока популација.

Речиси половина од испитаниците (50,75 %) изјавиле дека конзумираат козји млечни производи, што укажува на потенцијал за подигање на свеста и за зголемување на потрошувачката на овие производи меѓу пошироката популација (слика бр. 18).



Слика бр. 18: Процентуална распределба на испитаниците во одговор на следново прашање: „Дали конзумирате/користите козјо млеко и производи од козјо млеко?“

Според табелата 28, се забележува дека поголем процент од жените (31,5 %) пријавиле конзумација во споредба со мажите (19,2 %). Меѓу возрастните групи, најголема конзумација е забележана кај испитаниците на возраст 18-29 години (23,8 %), додека најмал процент е кај испитаниците над 60 години (1 %). Овие податоци укажуваат на тенденцијата помладите и жените да конзумираат повеќе козјо млеко и козји млечни производи во споредба со постарите и со мажите. Сепак, резултатите од тестот Chi-square покажуваат дека разликите не се статистички значајни за пол ( $\chi^2(1, n = 400) = 2,48, p = 0,115$ ) и за возраст ( $\chi^2(4, n = 400) = 6,46, p = 0,168$ ).

Слични резултати беа добиени и при анализата на врската помеѓу регионот и конзумацијата на производи од козјо млеко. Спроведен е тестот на независност  $\chi^2$  за да се утврди дали постои статистички значајна поврзаност помеѓу регионот на живеење на испитаниците и нивната конзумација на производи од козјо млеко.

Резултатите покажаа дека оваа поврзаност не е статистички значајна,  $\chi^2(8, n = 400) = 8,38, p = 0,397$ . Ова укажува на тоа дека веројатноста за конзумација на производи од козјо млеко не се разликува значително помеѓу различните региони. Иако во некои региони, како што е Полог, имаше поголем број испитаници, процентуалната распределба на потрошувачи и непотрошувачи останува приближно слична.

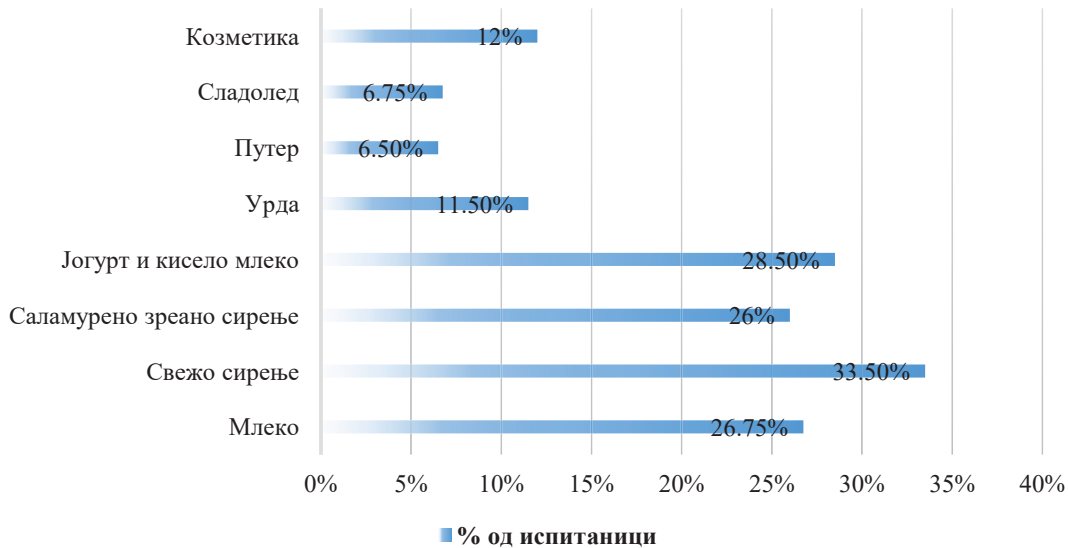
Оттука може да се заклучи дека регионот не претставува значаен фактор што влијае врз консумацијата на производи од козјо млеко. Иако во податоците се забележуваат одредени трендови, демографските карактеристики, сами по себе, не се доволно силни предиктори за навиките за консумација козјо млеко и козји млечни производи во испитуваната група.

Табела 28: Консумација на козјо млеко и на козји млечни производи според пол, возраст и регион на живеење (n, %,  $\chi^2$ )

Параметар		Да	Не	Вкупно	$\chi^2$ (df)	p
<b>Пол</b>						
Жена	n (%)	126 (31,5)	137 (34,2)	263 (65,8)	2,48 (1)	0,115
Маж	n (%)	77 (19,2)	60 (15,0)	137 (34,2)		
<b>Возраст</b>						
18-29	n (%)	95 (23,8)	105 (26,2)	200 (50,0)	6,46 (4)	0,168
30-39	n (%)	44 (11,0)	39 (9,8)	83 (20,8)		
40-49	n (%)	37 (9,2)	32 (8,0)	69 (17,2)		
50-59	n (%)	23 (5,8)	12 (3,0)	35 (8,8)		
60+	n (%)	4 (1,0)	9 (2,2)	13 (3,2)		
<b>Регион</b>						
Скопје	n (%)	20 (5,0)	22 (5,5)	42 (10,5)	8,38 (8)	0,397
Исток	n (%)	5 (1,2)	1 (0,2)	6 (1,5)		
Југоисток	n (%)	4 (1,0)	0 (0,0)	4 (1,0)		
Североисток	n (%)	4 (1,0)	4 (1,0)	8 (2,0)		
Пелагонија	n (%)	6 (1,5)	5 (1,2)	11 (2,8)		
Вардар	n (%)	10 (2,5)	10 (2,5)	20 (5,0)		
Југозапад	n (%)	9 (2,2)	6 (1,5)	15 (3,8)		
Полог	n (%)	130 (32,5)	128 (32,0)	258 (64,5)		
Друго	n (%)	15 (3,8)	21 (5,2)	36 (9,0)		

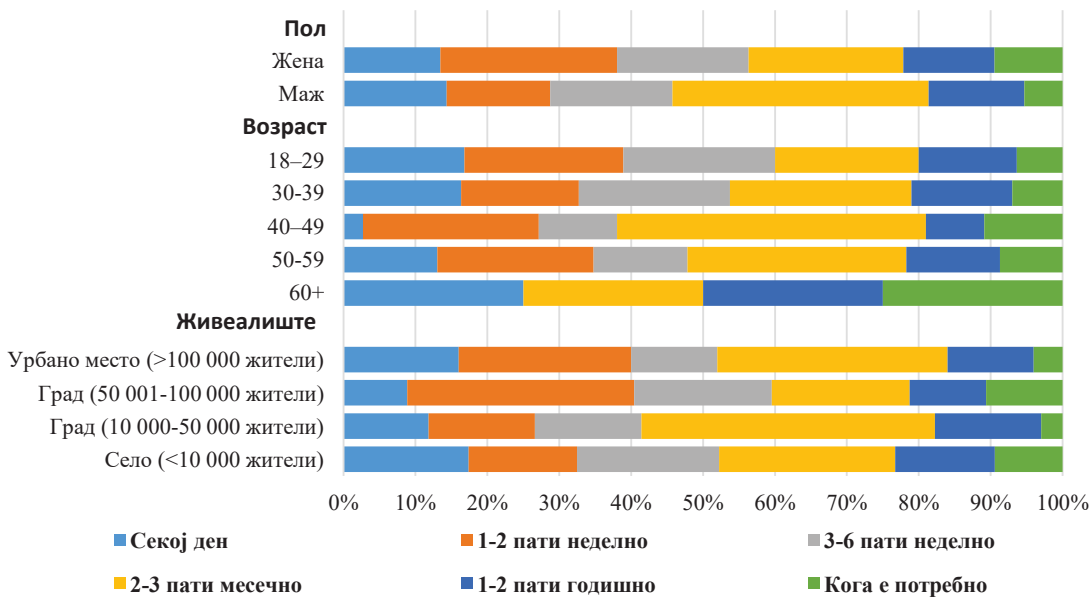
Меѓу потрошувачите, најчесто конзумираните производи се свежо сирење (33,50 %), јогурт (28,50 %), млеко (26,75 %) и зрено сирење (26 %) (слика бр. 19).

Иако путерот, сладоледот и урдата не се најзастапени или главни производи на пазарот, тие претставуваат ветувачки сегменти за раст и за проширување во прехранбената индустрија (Miller & Lu, 2019).



Слика бр. 19: Процентуална распределба на испитаниците во одговор на следново прашање: „Кои видови козји млечни производи ги конзумирате/користите?“

Резултатите од анализата на фреквенцијата на консумација на производи од козјо млеко покажуваат дека најголемиот дел од испитаниците кои пријавиле дека ги користат овие производи, тоа го прават 1-2 пати неделно или 2-3 пати месечно, додека помал процент ги конзумира секојдневно (слика бр. 20).



Слика бр. 20: Фреквенција на консумација на козјо млеко и на козји млечни производи според пол, возраст и според живеалиште (%)

Во однос на полот, забележана е поголема фреквенција на консумација кај жените, особено во категориите 1-2 пати неделно (15,3 %) и 3-6 пати неделно (11,4 %), во

споредба со мажите кај кои овие вредности се пониски. Ова може да укажува на тоа дека жените имаат поголема навика или поголем интерес за употреба на козји производи, можеби поради нивните перцепции за здравствените придобивки.

Кај различните возрасни групи, највисока фреквенција на консумација е забележана кај младите (18-29 години), особено во категориите 1-2 пати неделно (10,4 %) и 3-6 пати неделно (9,9 %). Со зголемување на возраста, консумацијата има тенденција на опаѓање. Сепак, треба да се има предвид дека постарите возрасни групи помалку се застапени во примерокот, што може да влијае врз интерпретацијата на овие резултати. Во однос на местото на живеење, жителите од рурални средини пријавиле повисока фреквенција на консумација во споредба со урбаните средини. Испитаниците од села (<10 000 жители) најчесто ги конзумираат козјите производи 2-3 пати месечно (10,4 %) и 1-2 пати неделно (6,4 %). Ова е очекуван резултат, бидејќи во руралните подрачја овие производи полесно се достапни и се дел од традиционалната исхрана.

Вкупно, може да се заклучи дека консумацијата на производи од козјо млеко е умерена и повремена, со одредени разлики во однос на полот, возраста и на местото на живеење. Трендовите укажуваат на тоа дека жените, младите испитаници и жителите на рурални средини се најсклони кон почеста употреба на козји производи.

Според резултатите од анкетата, најголемиот дел од испитаниците ги набавуваат козјите млечни производи од супермаркети (44,25 %), потоа од локални фарми (24,25 %), додека помал процент купуваат од локални пазари (12 %) и преку онлајн-добавувачи (1,50 %). Најголемиот дел од потрошувачите ги купуваат козјите млечни производи во супермаркети, главно поради практичноста и довербата што ги поврзуваат со овие продажни места. Дел од потрошувачите, сепак, претпочитаат да ги набавуваат производите директно од фарми, каде што свежината и близината претставуваат клучни предности. Локалните пазари постепено го губат своето значење со промените во начинот на живот, додека онлајн-купувањето, иако сè уште ограничено, покажува потенцијал за развој во иднина.

Резултатите за причините за неконсумација на козји млечни производи откриваат значајни разлики помеѓу одделни социодемографски групи. Анализата опфати пет најчесто наведени причини, при што беа испитани половите и возрасните разлики во нивната застапеност. Значајни разлики беа пронајдени помеѓу половите во повеќето причини за неконсумација на козји млечни производи ( $p < 0,05$ ) (табела 29).

Жените почесто од мажите наведуваат дека „силниот вкус и мирис“ (75,2 % наспроти 40,0 %) и „не им се допаѓаат“ (52,6 % наспроти 26,7 %) се главните причини за неконсумација. Овие резултати укажуваат на тоа дека перцептивните фактори поврзани со сензорните карактеристики на производот се поважни кај женската популација.

Од друга страна, мажите почесто ги посочуваат „недоволната информираност“ (36,7 % наспроти 13,1 %) и „ограничената достапност на националниот пазар“ (26,7 % наспроти 10,2 %) како главни причини. Ова укажува на тоа дека кај мажите поголема улога имаат информативните и практичните аспекти на достапноста на производите. Причината „цена“ не покажува статистички значајна разлика меѓу половите ( $p = 0,224$ ), што сугерира дека економскиот фактор не е поврзан со полот во однос на одбивањето на козјите млечни производи.

Табела 29: Причини за неконсумација на козјо млеко и на козји млечни производи според пол (% ,  $\chi^2$ )

Причина за неконсумација	Жени (%)	Мажи (%)	$\chi^2$ (df)	<i>p</i>
Не ми се допаѓаат	52,6	26,7	11,314 (1)	0,001
Не ги знам	13,1	36,7	14,274 (1)	< 0,001
Ограничена достапност на националниот пазар	10,2	26,7	8,744 (1)	0,003
Цена	16,1	23,3	1,479 (1)	0,224
Силен вкус и мирис	75,2	40,0	22,547 (1)	< 0,001

Анализата укажува на значајно влијание на возраста врз повеќе причини за неконсумација (табела 30). Најмладите испитаници (18-29 години) најчесто наведуваат дека „силниот вкус и мирис“ (74,3 %) и „не им се допаѓаат“ (58,1 %) се главни причини за неконсумација. Ова покажува дека перцептивните фактори доминираат кај младата популација, која веројатно има помал контакт или помала навика во однос на ваквите производи. Со зголемување на возраста, овие причини се намалуваат, додека кај повозрасните групи (50-59 и 60+) се појавуваат „ограничената достапност на националниот пазар“ (33,3 %) и „цената“ (33,3 %) како почести причини. Ова укажува на тоа дека практичните и економските аспекти добиваат поголемо значење кај постарите испитаници. Причината „не ги знам“ не покажува значајна разлика меѓу возрасните групи ( $p = 0,209$ ), што укажува на тоа дека нивото на информираност приближно е еднакво кај сите возрасти.

Табела 30: Причини за неконсумација на козјо млеко и на козји млечни производи според возраст (% ,  $\chi^2$ )

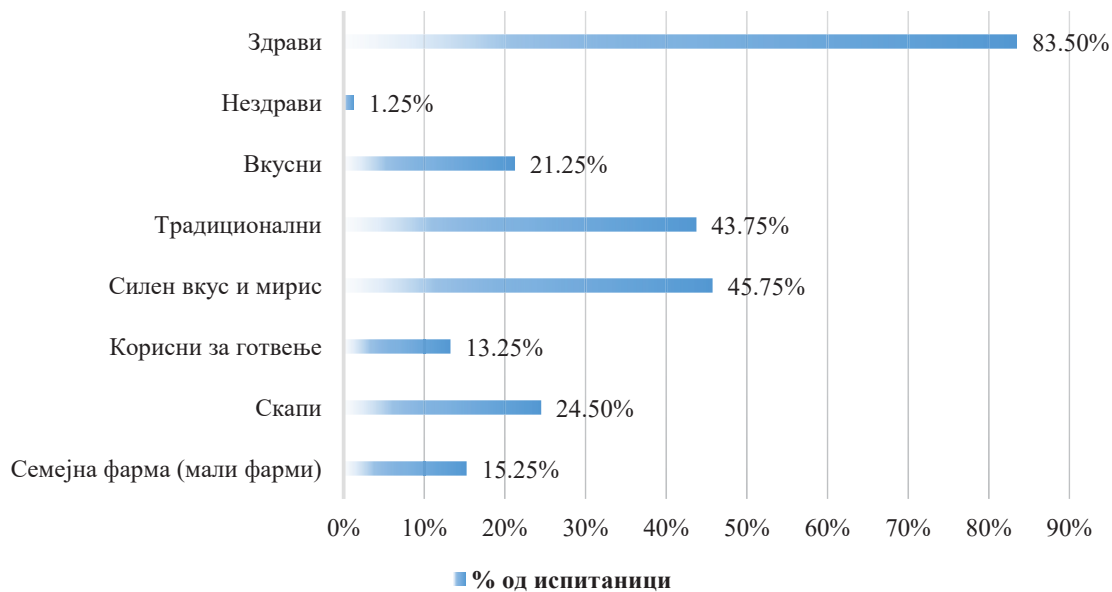
Причина за неконсумација	18-29 (%)	30-39 (%)	40-49 (%)	50-59 (%)	60+ (%)	$\chi^2$ (df)	<i>p</i>
Не ми се допаѓаат	58,1	41,0	31,2	8,3	0,0	23,875 (4)	< 0,001
Не ги знам	20,0	17,9	21,9	41,7	0,0	7,097 (4)	0,209
Ограничена достапност на националниот пазар	8,6	10,3	31,2	33,3	33,3	16,046 (4)	0,003
Цена	15,2	12,8	25,0	33,3	33,3	5,583 (4)	0,233
Силен вкус и мирис	74,3	61,5	59,4	25,0	33,3	16,895 (4)	0,002

Слични резултати се објавени и од Гунеј и Сангун (Güney & Sangün, 2019), Рабиеи и соработниците (Rabiei et al., 2021), Де Сантис и соработниците (De Santis et al., 2019) кои ги наведуваат сензорните карактеристики, како вкус и мирис, како значајни ограничувања за консумацијата на козји млечни производи, и од Варгас-Бело-Перес и соработниците (Vargas-Bello-Pérez et al., 2022) и од Зин-един и соработниците (Zine-

eddine et al., 2021) кои ги наведуваат повисоката цена и ограничената достапност во споредба со кравјото млеко како причини или ограничувања за консумацијата.

Недостатокот на сознанија меѓу потрошувачите се наведува како еден од главните фактори за ниската потрошувачка, додека демографските и социоекономските карактеристики, како возраст, пол, приход, ниво на образование и локација, значително влијаат врз изборот на потрошувачите (Güney & Ocak, 2013; Paskaš et al., 2020; Tütenk et al., 2022).

Врз основа на резултатите, испитаниците најчесто ги поврзуваат козјите млечни производи со следниве поими: здрави (83,50 %), со изразен вкус и мирис (45,75 %), традиционални (43,75 %) и скапи (24,50 %). Односно, поимите како вкусни, корисни за готвење и поврзани со мали семејни фарми поретко се асоцирани со овие производи (слика бр. 21).



Слика бр. 21: Процентуална распределба на испитаниците во одговор на следново прашање: „Кој од следниве концепти го поврзувате со козји млечни производи?“

Ова укажува на тоа дека, иако козјите млечни производи имаат позитивна перцепција, таа може да се унапреди дополнително преку поинтензивна кулинарска промоција и преку зголемена ценовна пристапност.

На прашањето зошто ги сметаат козјите млечни производи за здрави, испитаниците најчесто ги истакнаа нивните нутритивни придобивки (68,50 %), нивниот природен карактер (61 %) и традиционалната употреба за здравствени цели (37,50 %) (слика бр. 22).



Слика бр. 22: Процентуална распределба на испитаниците во одговор на следново прашање: „Зошто сметате дека козјите млечни производи се здрави?“

Слични резултати се забележани и во повеќе студии, каде што потрошувачите ги истакнале и здравствената и нутритивната вредност на козјото млеко како главен мотив за неговата употреба и побарувачка (Hadeb et al., 2024).

Резултатите од анкетата покажаа интерес кај потрошувачите за органски (50 %), производи без употреба на лекови (47,5 %) и за еколошки производи (30,5%) како алтернатива на козјите млечни производи за кои би биле подготвени да платат повеќе. Ова ги нагласува потребите производителите да се приспособат кон преференциите на потрошувачите.

Како што може да се види од податоците (табела 31), 54 % од испитаниците преферираат сирење од кравјо млеко, што најверојатно се должи на неговата достапност, помалку интензивниот вкус и на пониската цена во споредба со другите видови сирења. Сирењето од овчо млеко се наоѓа на второ место со 24 %, што укажува на постоење на умерена група потрошувачи кои го ценат неговиот побогат вкус и можеби неговото културно или регионално значење. Сирењето од козјо млеко е најмалку преферирано меѓу трите вида (22 %), иако сè уште е избор на значителен број испитаници.

Табела 31: Преференција за тип на млеко за сирење според пол и според возраст (n, %,  $\chi^2$ )

Параметар		Кравјо млеко	Овчо млеко	Козјо млеко	$\chi^2$ (df)	p
<b>Пол</b>						
Жени	(%)	161 (40,2)	51 (12,8)	51 (12,8)	16,575 (2)	< 0,001
Мажи	(%)	55 (13,8)	45 (11,2)	37 (9,2)		
<b>Возраст</b>						
18-29	(%)	134 (33,5)	36 (9,0)	30 (7,5)	6,46 (4)	0,168
30-39	(%)	42 (10,5)	22 (5,5)	19 (4,8)		
40-49	n (%)	24 (6,0)	24 (6,0)	21 (5,2)		
50-59	n (%)	12 (3,0)	8 (2,0)	15 (3,8)		
60+	n (%)	4 (1,0)	6 (1,5)	3 (0,8)		

Од анализата на демографските фактори, се гледа дека преференцијата за тип на млеко за сирење значајно е поврзана со полот, но не и со возраста. Жените почесто од мажите избираат кравјо млеко за сирење (161 од 263, 40,2 % спрема 55 од 137, 13,8 %), додека преференциите за овчо (51 од 263 спрема 45 од 137) и за козјо млеко (51 од 263 спрема 37 од 137) повеќе се изедначени помеѓу половите. Од друга страна, возраста не претставува значаен фактор ( $\chi^2(4, n = 400) = 6,46, p = 0,168$ ), бидејќи преференциите релативно се изедначени помеѓу различните возрасни групи.

Иако само 22 % од учесниците преферираат козјо сирење, 61 % изразиле интерес да дознаат за хранливата вредност на производите од козјо млеко.

Оваа интеграција на постоечката побарувачка и зголемената заинтересираност укажува на тоа дека консумацијата може да се стимулира преку информирање на потрошувачите за функционалниот и здравствено-промотивниот потенцијал на млечнокиселите бактерии присутни во козјото млеко и во козјите сирења, како и за другите нутритивни и биоактивни соединенија кои придонесуваат за вкупните здравствени придобивки, обезбедување подобра достапност на производите и приспособување на органолептичките својства според преференциите на потрошувачите.

## 5. ЗАКЛУЧОЦИ

Оваа студија обезбеди сеопфатна процена на микробната динамика и на квалитетот на занаетчиско козјо сирење произведено со примена на традиционална технологија преку интегрирана анализа на физичко-хемиските, микробиолошките, текстураалните и на колориметриските параметри, како и преку метатаксономски и културно-базирани пристапи. Добиените резултати овозможуваат подлабоко разбирање на влијанието на сезоната на производство врз составот, структурните својства и врз микробната екологија на сирењето, како и на нивната меѓусебна поврзаност за време на зреењето.

Физичко-хемиските параметри анализирани во оваа студија потврдија изразено влијание на сезоната на производство врз текот на зреењето и врз финалните карактеристики на белото саламурено козјо сирење. И во двата производствени периода беше забележано намалување на рН-вредноста и зголемување на титрационата киселост за време на зреењето, што укажува на активна микробиолошка и ензимска динамика. Сепак, есенските сирења покажаа поинтензивно закиселување (рН 4,62 по 60 дена) и повисока титрациона киселост (1,61 % еквиваленти на млечна киселина) во споредба со пролетните примероци (рН 5,35 и титрациона киселост 0,92 %), со статистички значајни разлики за рН ( $p < 0,05$ ).

И активноста на вода се намалуваше за време на зреењето, со пониски вредности кај есенските сирења (0,87) во однос на пролетните (0,94), што кореспондираше со повисоката содржина на NaCl кај есенските примероци (6,35 % наспроти 3,35%;  $p < 0,05$ ). Овие резултати укажуваат на тоа дека солењето имало значајна улога во регулирањето на микробиолошката активност и во биохемиските трансформации.

Содржината на сурови протеини покажа различна динамика во зависност од сезоната. Кај пролетните сирења беше забележано благо намалување (од 19,15 % на 18,48 %), што може да се припише на протеолиза и на миграција на растворливи азотни соединенија во саламурата. Наспроти тоа, есенските сирења покажаа стабилни и повисоки вредности (20,77 % до 21,35 %), со статистички значајна разлика во однос на пролетните примероци ( $p < 0,05$ ). Овие разлики веројатно се поврзани со различниот степен на дехидратација, концентрационите ефекти предизвикани од повисоката содржина на сол, како и со варијациите во почетниот состав на млекото.

Резултатите од анализата на бојата укажуваат на тоа дека сезоната на производство има значајно влијание врз колориметриските параметри на белото саламурено козјо сирење. Иако иницијалните вредности на  $L^*$  беа слични помеѓу сирењата (83,85 кај сирењето произведено во пролет и 84,29 кај сирењето произведено во есен), по 60 дена зреење беа утврдени статистички значајни разлики (84,30 наспроти 80,18;  $p < 0,05$ ), што укажува на различна динамика на структурни и хемиски промени во текот на зреењето. Негативните вредности на  $a^*$  кај сите примероци потврдуваат присуство на благи зеленикави нијанси, типични за сирења од сурово козјо млеко, додека позитивните вредности на  $b^*$  укажуваат на доминантна жолтеникавост, која може да биде поврзана со составот на млекото, содржината на маснотии и со сезонските варијации во исхраната на животните.

Забележаните разлики во бојата се во согласност со промените во рН, активност на вода и со содржината на NaCl, кои влијаат врз микроструктурата на сирењето и врз

начинот на расејување на светлината. Пониската  $a_w$  и повисоката содржина на сол кај есенските сирења најверојатно придонеле за поинтензивни структурни модификации на протеинската матрица, што резултирало со различни вредности на  $L^*$ ,  $a^*$  и  $b^*$  во споредба со пролетните примероци. Оттука, бојата може да се смета како индиректен индикатор за текот на зреењето и за влијанието на сезонските фактори врз физичко-хемиските својства на сирењето.

Не беа утврдени статистички значајни разлики во цврстината помеѓу пролетните и есенските сирења; вредностите се движеа околу 10 N, што укажува на тоа дека отпорноста при загризување на производот останува стабилна без оглед на сезоната. Спротивно, параметрите кохезивност и еластичност покажаа значајно сезонско влијание ( $p < 0,05$ ). Повисоката кохезивност кај пролетните примероци (0,83 наспроти 0,62 кај есенското сирење по 60 дена зреење) може да се поврзе со повисоката активност на вода и со пониската концентрација на NaCl, додека повисоката еластичност кај есенските сирења (3,18 наспроти 2,13 кај пролетното сирење по 60 дена зреење) веројатно е поврзана со пониската pH-вредност, пониската  $a_w$  и повисоката содржина на сол. Адхезивноста не покажа сезонски разлики помеѓу сирењата произведени во пролет и во есен, со вредности блиски до нула кај двете групи (0,63 наспроти 0,64, соодветно).

Генерално, текстуралните својства на сирењата произведени во различни сезони се чини дека се резултат на интеракција помеѓу физичко-хемиските параметри (pH,  $a_w$ , NaCl и протеинска содржина), кои заеднички ја модифицираат структурната организација на протеинската матрица за време на зреењето.

Вкупно 53 испарливи органски соединенија беа идентификувани во примероците од козјо сирење, при што киселините, кетоните и алкохолите беа најзастапени. Есенското сирење покажа покомплексен ароматичен профил и поголем број VOCs во споредба со пролетното, што укажува на значајно сезонско влијание врз формирањето на аромата. За време на зреењето се забележа зголемување на киселините и на кетоните, додека концентрацијата на алкохолите се намалуваше, веројатно поради нивна трансформација во естри.

Микробиолошките резултати покажуваат дека и покрај релативно високите почетни вредности на вкупните мезофилни аеробни бактерии во суровото козјо млеко (околу 5,41-6,40 log cfu g<sup>-1</sup>), процесот на производство и зреење овозможил развој на стабилна и доминантна популација на млечнокисели бактерии, кои одиграле клучна улога во микробиолошката еволуција на сирењето. По 60 дена зреење, бројот на мезофилни лактобацили достигна 6,51 log cfu g<sup>-1</sup> во пролетните и 5,78 log cfu g<sup>-1</sup> во есенските сирења, додека мезофилните лактококи достигнаа до 7,18 log cfu g<sup>-1</sup> во пролет и 6,11 log cfu g<sup>-1</sup> во есен ( $p < 0,05$ ), што укажува на активна ферментација и на успешна адаптација на автохтоната микробиота.

Истовремено, беше забележано постепено намалување на индикаторските и потенцијално несаканите микроорганизми. Бројот на Enterobacteriaceae се намали на <1 log cfu g<sup>-1</sup> кај пролетните и 1,25 log cfu g<sup>-1</sup> кај есенските сирења по 60 дена, додека *Escherichia coli* се движеше помеѓу 1,06 и 1,68 log cfu g<sup>-1</sup>. Коагулаза-позитивните стафилококи се редуцираа од 4,76 и 5,80 log cfu g<sup>-1</sup> на ден 0 на <1,0 и 1,76 log cfu g<sup>-1</sup> по 60 дена зреење (пролет и есен, соодветно), што укажува на инхибиторниот ефект на закиселувањето, солењето и на конкурентната микробна активност.

Отсуството на стафилококни ентеротоксини, како и недетектирањето на *Salmonella* spp. и на *Listeria monocytogenes*, дополнително ја потврдува микробиолошката безбедност на финалниот производ. Вкупно земено, резултатите укажуваат на тоа дека традиционалниот процес на зреење, под влијание на автохтоната млечнокисела микрофлора, придонесува за микробиолошка стабилизација, развој на квалитет и за осигурување безбедност на белото саламурено козјо сирење.

Пролетните сирења покажаа микробен профил збогатен со Carnobacteriaceae, *Enterococcus*, *Serratia* и *Tetragenococcus halophilus*, додека есенските примероци беа обележани со доминација на *Companilactobacillus* и *Lactococcus*, заедно со неколку претставници на фамилијата Enterobacteriaceae. Јасната поделба помеѓу пролетната и есенската микробиота, како и појавата на необични таксони поврзани со млечните производи како што се Amphibacillaceae, *Tetragenococcus halophilus* и *Companilactobacillus*, истакнува нов еколошки пејзаж обликуван од занаетчиските практики, варијабилноста на суровото млеко и од локалните услови на животната средина.

Клучен иновативен придонес на оваа студија претставува сеопфатната изолација и карактеризација на 134 млечнокисели бактерии од млеко, сирење, саламура и од производна средина. Процената на нивната протеолитичка и липолитичка активност, способноста за продукција на егзополисахариди и, особено, анализата на нивниот безбедносен профил преку скрининг на генот *hdcA*, овозможија фундаментален увид во функционалните улоги на овие микроорганизми во процесите на закиселување, зреење и на развој на вкусот. Значаен наод се изразената разновидност и перзистентноста на видовите од родот *Enterococcus* во млекото, сирењето, саламурата и производната средина. Повеќе таксони, вклучувајќи *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. durans*, *E. lactis*, *E. italicus* и *E. mundtii*, претставуваа стабилна компонента на микробниот екосистем, одразувајќи ги екологијата на суровото млеко и континуираниот трансфер од производствени површини во фармата. И покрај нивната амбивалентна репутација, овие изолати покажаа технолошки релевантни својства.

Идентификацијата на автохтони соеви со посакувани технолошки својства и без потенцијал за продукција на хистамин обезбедува цврста основа за понатамошен избор на starter или помошни култури, кои можат да придонесат за валоризација и за делумна стандардизација на традиционалните производи, при истовремено зачувување на нивниот територијален идентитет.

Сензорската анализа на белото саламурено козјо сирење откри дека сезоната има доминантно влијание врз квалитетот на сирењето. Пролетните сирења покажаа повисоки оценки за изглед ( $19,38 \pm 0,20$  наспроти  $18,13 \pm 0,29$  за есенските,  $p = 0,005$ ), мирис ( $29,38 \pm 0,37$  наспроти  $23,15 \pm 0,35$ ,  $p < 0,001$ ) и за вкус ( $19,85 \pm 0,10$  наспроти  $16,85 \pm 0,16$ ,  $p < 0,001$ ), додека текстурата остана релативно стабилна без оглед на сезоната ( $33,75 \pm 0,42$  наспроти  $32,90 \pm 0,59$ ,  $p = 0,076$ ). Денот на производство и интеракцијата помеѓу сезоната и серијата не покажаа статистички значајни разлики. Како резултат на овие разлики, вкупната сензорска оценка значително беше повисока кај пролетното сирење ( $102,36$ ,  $97,48$  % од максималната вредност) наспроти есенското ( $91,03$ ,  $86,69$  %). Оваа разлика ја истакнува клучната улога на сезонските промени во исхраната на животните,

особено изобилството на свежи пасишта во пролетните месеци, во обликувањето на сензорскиот квалитет на сирењето.

Резултатите од анкетата покажуваат дека консумацијата на козји млечни производи меѓу испитаниците е умерена и повремена, со одредени варијации во зависност од демографските карактеристики. Поголемиот дел од испитаниците беа жени (65,75 %) и на возраст од 18-29 години (50%), а најмногу потекнуваа од Полошкиот Регион (64,5 %). Речиси половина од испитаниците (50,75 %) пријавиле консумација на козји производи, со повисока застапеност кај жените (31,5 % наспроти 19,2 %) и кај младите испитаници (23 % за 18-29 години), иако овие разлики не беа статистички значајни за пол и за возраст. Најчесто конзумирани производи се свежо сирење (33,5 %), јогурт и кисело млеко (28,5 %), млеко (26,75 %) и зрено сирење (26%), при што најголем дел од испитаниците ги користат 1-2 пати неделно или 2-3 пати месечно. Поголема фреквенција на консумација е забележана кај жените, младите и жителите на рурални средини.

Најчести места за набавка се супермаркети (44,25 %) и локални фарми (24,25 %), додека локалните пазари (12 %) и онлајн-добавувачите (1,5 %) помалку се користени. Причините за неконсумација се поврзани со сензорни карактеристики, достапност и информираност. Жените почесто наведуваат „силен вкус и мирис“ (75,2 % наспроти 40 %) и „не ми се допаѓаат“ (52,6 % наспроти 26,7 %), додека мажите посочуваат „недоволна информираност“ (36,7 % наспроти 13,1 %) и „ограничена достапност“ (26,7 % наспроти 10,2 %). Цената не покажува статистички значајна разлика помеѓу половите.

Анализата открива и дека возраста влијае врз причините за неконсумација: најмладите испитаници доминираат со перцептивни фактори како силен вкус и мирис, додека кај повозрасните практичните и економските аспекти, како ограничена достапност и цена, добиваат поголемо значење. Најчесто козјите млечни производи се поврзуваат со поими како „здрави“ (83,5 %), „со изразен вкус и мирис“ (45,75 %) и „традиционални“ (43,75 %), додека помалку се перципираат како „вкусни“ или „поврзани со мали семејни фарми“.

Иако само 22 % од испитаниците преферираат козјо сирење, 61 % изразиле интерес да дознаат за хранливата вредност на производите од козјо млеко, што укажува на потенцијал за подигање на свеста и за стимулирање на потрошувачката.

Севкупно, резултатите ја нагласуваат комплексната природа на традиционалното сирење како динамичен биолошки систем во кој физичко-хемиските промени, текстуалните карактеристики и микробната заедница меѓусебно тесно се поврзани. Интеграцијата на современи молекуларни техники со изолација и со функционална карактеризација на одржливи соеви овозможува премин од дескриптивна кон применлива микробиологија, отворајќи можности за научно заснована валоризација, подобрување на безбедноста и за контролирана стандардизација на традиционалните млечни производи, без нарушување на нивниот автентичен карактер.

## КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА

1. Abarquero, D., Bodelón, R., Flórez, A., Fresno, J., Renes, E., Mayo, B. & Tornadizo, M. (2023). Technological and safety assessment of selected lactic acid bacteria for cheese starter cultures design: Enzymatic and antimicrobial activity, antibiotic resistance and biogenic amine production. *LWT*, 180, 114709. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114709>
2. Abd El-Salam, M. & Alichanidis, E. (2004). Cheese varieties ripened in brine. In P. Fox, P. L. H. McSweeney, T. M. Cogan, & T. P. Guinee (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (3rd ed., Vol. 2, pp. 227-249). Elsevier.
3. Abdul Hakim, B., Xuan, N. & Oslan, S. (2023). A Comprehensive Review of Bioactive Compounds from Lactic Acid Bacteria: Potential Functions as Functional Food in Dietetics and the Food Industry. *Foods*, 12(15), 2850. <https://doi.org/10.3390/foods12152850>
4. Abedi, E. & Hashemi, S. (2020). Lactic acid production - producing microorganisms and substrates sources-state of art. *Heliyon*, 6(10), e04974. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04974>
5. Afzal, M., Jacquet, T., Delaunay, S., Borges, F., Millière, J.-B., Revol-Junelles, A.-M. & Cailliez-Grimal, C. (2010). *Carnobacterium maltaromaticum*: Identification, isolation tools, ecology and technological aspects in dairy products. *Food Microbiology*, 27(5), 573-579. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.03.019>
6. Aguirre-Garcia, Y., Nery-Flores, S., Campos-Muzquiz, L., Flores-Gallegos, A., Palomo-Ligas, L., Ascacio-Valdés, J., Sepúlveda-Torres, L. & Rodríguez-Herrera, R. (2024). Lactic Acid Fermentation in the Food Industry and Bio-Preservation of Food. *Fermentation*, 10, 168. <https://doi.org/10.3390/fermentation10030168>
7. Ahansaz, N., Tarrah, A., Pakroo, S., Corich, V. & Giacomini, A. (2023). Lactic Acid Bacteria in Dairy Foods: Prime Sources of Antimicrobial Compounds. *Fermentation*, 9(11), 964. <https://doi.org/10.3390/fermentation9110964>
8. Ahmed, T., Sun, X. & Udenigwe Chibuiké, C. (2022). Role of structural properties of bioactive peptides in their stability during simulated gastrointestinal digestion: A systematic review. *Trends in Food Science & Technology*, 120, 265-273. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.008>
9. Ajayeoba, T. & Ijabadeniyi, O. (2023). Lactic acid bacteria for the generation of bioactive peptides. In D. Montet, R. Ray, V. Azevedo, & S. Paramithiotis (Eds.), *Lactic Acid Bacteria as Cell Factories: Synthetic Biology and Metabolic Engineering* (pp. 165-182). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91930-2.00020-1>
10. Akpoghelié, P., Edo, G., Ali, A., Yousif, E., Zainulabdeen, K., Owheruo, J., Isoje, E., Igbuku, U., Essaghah, A., Makia, R., Ahmed, D., Umar, H. & Alamiery, A. (2025). Lactic acid bacteria: Nature, characterization, mode of action, products and applications. *Process Biochemistry*, 152, 1-28. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2025.02.010>
11. Albano, H., Todorov, S., van Reenen, C., Hogg, T., Dicks, L. & Teixeira, P. (2007). Characterization of two bacteriocins produced by *Pediococcus acidilactici* isolated from “Alheira”, a fermented sausage traditionally produced in Portugal. *International Journal of Food Microbiology*, 116(2), 239-247. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.01.011>

12. Ali, S., Khan, S., Hamayun, M. & Lee, I. (2023). The Recent Advances in the Utility of Microbial Lipases: A Review. *Microorganisms*, 11(2), 510. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020510>
13. Alichanidis, E. & Polychroniadou, A. (2008). Characteristics of major traditional regional cheese varieties of East-Mediterranean countries: a review. *Dairy Science & Technology*, 88, 495-510. <https://doi.org/10.1051/dst:2008023>
14. Aljohani, A., Al-hejin, A. & Shori, A. (2023). Bacteriocins as promising antimicrobial peptides, definition, classification, and their potential applications in cheeses. *Food Science and Technology*, 43, e118021. <https://doi.org/10.1590/fst.118021>
15. ALKaisy, Q., Al-Saadi, J., Al-Rikabi, A., Altemimi, A., Hesarinejad, M. & Abedelmaksoud, T. (2023). Exploring the health benefits and functional properties of goat milk proteins. *Food Science & Nutrition*, 11(10), 5641-5656. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3531>
16. Alkhalaileh, N. (2025). Textural Profile Characterizations of White Brined Cheese Manufactured from Sheep's, Goat's or Combination Milk Mixtures. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 44(1), 117-123. <http://dx.doi.org/10.18805/ajdf.RDRF-453>
17. Alp Gundog, D., Ertas Onmaz, N., Gungor, C., Koskeroglu, K., Ozkaya, Y. & Karadal, F. (2025). *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* in dairy production line: Antibiotic resistance profile and virulence characteristics. *International Dairy Journal*, 165, 106209. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2025.106209>
18. Altin, C., Kabwanga, T., Kiran, F. & Ozturkoglu-Budak, S. (2024). Evaluation of autochthonous *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* strain as a candidate starter culture in white-brined cheese. *Food Science and Biotechnology*, 33, 115-127. <https://doi.org/10.1007/s10068-023-01332-y>
19. Alvarez, M. & Moreno-Arribas, M. (2014). The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution. *Trends in Food Science and Technology*, 39(2), 146-155. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.07.007>
20. Álvarez, S. & Fresno, M. (2021). Effect of the Ripening Period and Intravarietal Comparison on Chemical, Textural and Sensorial Characteristics of Palmero (PDO) Goat Cheese. *Animals*, 11(1), 58. <https://doi.org/10.3390/ani11010058>
21. Al-Wabel, N. (2008). Mineral contents of milk of cattle, camels, goats and sheep in the central region of Saudi Arabia. *Asian Journal of Biochemistry*, 3, 373-375.
22. Amigo, L. & Fontecha, J. (2011). Goat milk. In J. F. Fuquay, & P. McSweeney (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (2nd ed., pp. 484-493). Elsevier Ltd.
23. Amorim, F., Coitinho, L., Dias, A., Friques, A., Monteiro, B., Rezende, L., Pereira, T., Campagnaro, B., De Pauw, E., Vasquez, E. & Quinton, L. (2019). Identification of new bioactive peptides from Kefir milk through proteopeptidomics: Bioprospection of antihypertensive molecules. *Food Chemistry*, 282, 109-119. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.010>
24. Annapure, U. & Pratisha, N. (2022). Psychrozymes: A novel and promising resource for industrial applications. In M. Kuddus (Ed.), *Microbial Extremozymes* (pp. 185-195). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822945-3.00018-X>

25. Arqués, J., Rodríguez, E., Langa, S., Landete, J. & Medina, M. (2015). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria in dairy products and gut: effect on pathogens. *BioMed Research International*, 2015, 584183. <https://doi.org/10.1155/2015/584183>
26. Asare, P., Zurfluh, K., Greppi, A., Lynch, D., Schwab, C., Stephan, R. & Lacroix, C. (2020). Reuterin Demonstrates Potent Antimicrobial Activity Against a Broad Panel of Human and Poultry Meat *Campylobacter* spp. Isolates. *Microorganisms*, 8(1), 78. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010078>
27. Asteri, I., Kittaki, N. & Tsakalidou, E. (2010). The effect of wild lactic acid bacteria on the production of goat's milk soft cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 63(2), 234-242. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00564.x>
28. Atanasova, J. & Ivanova, I. (2010). Antibacterial Peptides from Goat and Sheep Milk Proteins. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24, 1799-1803.
29. Awad, A. & Abdou, M. (2024). Cheese ripening: Impact on cheese as a functional food. In M. Abdou (Ed.), *Recent Trends on Cheese as Functional Food with Great Nutritive and Health Benefits*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.114059>
30. Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: Classification and Physiology. In S. Salminen, & A. von Wright (Eds.), *Lactic Acid Bacteria* (3rd ed., Vol. 139, pp. 1-66). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780824752033>
31. Ayivi, R., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S., Worku, M., Tahergorabi, R., Silva, R. & Ibrahim, S. (2020). Lactic Acid Bacteria: Food Safety and Human Health Applications. *Dairy*, 1(3), 202-232. <https://doi.org/10.3390/dairy1030015>
32. Bachmann, H., Frohlich-Wyder, M., Jakob, E., Roth, E., Wechsler, D., Beuvier, E. & Buchin, S. (2011). Raw milk cheeses. In J. W. Fuquay, P. F. Fox, & P. L. McSweeney (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (2nd ed., Vol. 1). Academic Press, Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00519-7>
33. Badis, A., Guetarni, D., Moussa Boudjema, D., Henni, D. & Kihal, M. (2004b). Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiology*, 21(5), 579-588. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2003.11.006>
34. Badis, A., Guetarni, D., Moussa-Boudjemâa, B., Henni, D., Tornadijo, M. & Kihal, M. (2004a). Identification of cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. *Food Microbiology*, 21(3), 343-349. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(03\)00072-8](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(03)00072-8)
35. Balciunas, E., Martinez, F., Todorov, S., Franco, B., Converti, A. & Oliveira, R. (2013). Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. *Food Control*, 32(1), 134-142. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.025>
36. Banicod, R., Ntege, W., Njiru, M., Abubakar, W., Kanthenga, H., Javaid, A. & Khan, F. (2025). Production and transformation of biogenic amines in different food products by the metabolic activity of the lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 428, 110996. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110996>
37. Bansal, V. & Veena, N. (2024). Understanding the role of pH in cheese manufacturing: general aspects of cheese quality and safety. *Journal of Food Science and Technology*, 61(1), 16-26. <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05631-w>

38. Barbieri, F., Montanari, C., Gardini, F. & Tabanelli, G. (2019). Biogenic Amine Production by Lactic Acid Bacteria: A Review. *Foods*, 8, 17. <https://doi.org/10.3390/foods8010017>
39. Barłowska, J., Sz wajkowska, M., Litwińczuk, Z. & Król, J. (2011). Nutritional Value and Technological Suitability of Milk from Various Animal Species Used for Dairy Production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(6), 291-302. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00163.x>
40. Batt, C. (2014a). *Lactococcus* – introduction. In C. Batt, & M. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (2nd ed., pp. 439-441). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00181-6>
41. Batt, C. (2014b). *Lactobacillus* – introduction. In C. Batt, & M. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (2nd ed., pp. 409-411). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00176-2>
42. Becker, K., Heilmann, C. & Peters, G. (2014). Coagulase-negative staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 870-926. <https://doi.org/10.1128/CMR.00109-13>
43. Behnsen, J., Deriu, E., Sassone-Corsi, M. & Raffatellu, M. (2013). Probiotics: properties, examples, and specific applications. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 3(3), a010074. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a010074>
44. Belleggia, L. & Osimani, A. (2023). Fermented fish and fermented fish-based products, an ever-growing source of microbial diversity: A literature review. *Food Research International*, 172, 113112. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113112>
45. Belleggia, L., Milanović, V., Cardinali, F., Garofalo, C., Clementi, F., Aquilanti, L. & Osimani, A. (2021). Prevalence of Histidine Decarboxylase Genes of Gram-Positive Bacteria in Surströmming as Revealed by qPCR. *Indian journal of microbiology*, 61(1), 96-99. <https://doi.org/10.1007/s12088-020-00907-1>
46. Bencardino, D., Amagliani, G. & Brandi, G. (2021). Carriage of *Staphylococcus aureus* among food handlers: An ongoing challenge in public health. *Food Control*, 130, 108362. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108362>
47. Beresford, T., Fitzsimons, N., Brennan, N. & Cogan, T. (2001). Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 259-274. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00056-5](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00056-5)
48. Bertuzzi, A. McSweeney, P. Rea, M. & Kilcawley, K. (2018). Detection of Volatile Compounds of Cheese and Their Contribution to the Flavor Profile of Surface-Ripened Cheese. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 371-390. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12332>
49. Bettera, L., Levante, A., Bancalari, E., Bottari, B., Cirlini, M., Neviani, E. & Gatti, M. (2023). *Lactocaseibacillus* Strains Isolated from Raw Milk: Screening Strategy for Their Qualification as Adjunct Culture in Cheesemaking. *Foods*, 12, 3949. <https://doi.org/10.3390/foods12213949>
50. Bibi, A., Xiong, Y., Rajoka, M., Mehwish, H., Radicetti, E., Umair, M., Shoukat, M., Khan, M. & Aadil, R. (2021). Recent Advances in the Production of Exopolysaccharide (EPS) from *Lactobacillus* spp. and Its Application in the Food Industry: A Review. *Sustainability*, 13(22), 12429. <https://doi.org/10.3390/su132212429>
51. Bjørgan, B., Varela, P., Johansen, A., Porcellato, D. & Skeie, S. (2025). The effect of season, somatic cell count and bulk milk storage time on the sensory and chemical

- characteristics of an aged hard goat milk cheese. *International Dairy Journal*, 164, 106207. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2025.106207>
52. Blachier, F., Davila, A., Benamouzig, R. & Tome, D. (2011). Channelling of arginine in NO and polyamine pathways in colonocytes and consequences. *Frontiers in Bioscience*, 16, 1331-1343.
53. Bluma, A., Ciprovica, I. & Sabovics, M. (2017). The influence of non-starter lactic acid bacteria on Swiss-type cheese quality. *Agriculture & Food*, 5, 34-41.
54. Bockelmann, W., Koslowsky, M., Goerges, S., Scherer, S., Franz, C. & Heller, K. (2017). Growth inhibition of *Listeria monocytogenes* by bacteriocin-producing *Staphylococcus equorum* SE3 in cheese models. *Food Control*, 71, 50-56. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.06.019>
55. Bøe, C. & Holo, H. (n.d.). Engineering *Lactococcus lactis* for Increased Vitamin K2 Production. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00191>
56. Bonilla-Luque, O., Possas, A., Cabo, M., Rodríguez-López, P. & Valero, A. (2023). Tracking microbial quality, safety and environmental contamination sources in artisanal goat cheesemaking factories. *Food Microbiology*, 114, 104301. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104301>
57. Bonomo, M. & Salzano, G. (2013). Genotypic and technological diversity of *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* strains for use as adjunct starter cultures in Pecorino di Filiano cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 66(3), 402-409. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12040>
58. Børsting, M., Stallknecht, M., Vogensen, F. & Ardö, Y. (2015). Influence of proteolytic *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* on ripening of reduced-fat Cheddar cheese made with camel chymosin. *International Dairy Journal*, 41, 38-45. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.09.002>
59. Broadbent, J., McMahon, D., Oberg, C. & Welker, D. (2001). Use of exopolysaccharide-producing cultures to improve the functionality of low fat cheese. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 433-439. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00084-X](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00084-X)
60. Broadbent, J., McMahon, D., Welker, D., Oberg, C. & Moineau, S. (2003). Biochemistry, genetics, and applications of exopolysaccharide production in *Streptococcus thermophilus*: a review. *Journal of Dairy Science*, 86(2), 407-423. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73619-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73619-4)
61. Buffa, M., Trujillo, A., Pavia, M. & Guamis, B. (2001). Changes in textural, microstructural, and colour characteristics during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk. *International Dairy Journal*, 11(11-12), 927-934. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00141-8](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00141-8)
62. Bugaud, C., Buchin, S., Noël, Y., Tessier, L., Pochet, S., Martin, B. & Chamba, J. (2001). Relationships between Abondance cheese texture, its composition and that of milk produced by cows grazing different types of pastures. *Le Lait*, 81(5), 593-607. <https://doi.org/10.1051/lait:2001152>
63. Calatrava, E. (2022). Other *Streptococcus* species and *Enterococcus*. In N. Rezaei (Ed.), *Encyclopedia of Infection and Immunity* (Vol. 1, pp. 529-541). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818731-9.00159-2>

64. Callahan, B., McMurdie, P., Rosen, M., Han, A., Johnson, A. & Holmes, S. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581-583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
65. Cantor, M. D., van den Tempel, T., Hansen, T. & Ardö, Y. (2004). Blue cheese. In P. F. Fox, P. L. McSweeney, T. M. Cogan, & T. P. Guinee (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (Vol. 2, pp. 175-198). Academic Press.
66. Cardinali, F., Botta, C., Harasym, J., Reale, A., Ferrocino, I., Boscaino, F., Orkusz, A., Milanović, V., Garofalo, C., Rampanti, G., Aquilanti, L. & Osimani, A. (2024b). Tasting of traditional Polish fermented cucumbers: Microbiology, morpho-textural features, and volatilome. *Food Research International*, 177, 113851. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113851>
67. Cardinali, F., Rampanti, G., Harasym, J., Lucci, P., Ferrocino, I., Pacetti, D., Fanesi, B., Milanović, V., Garofalo, C., Petruzzelli, A., Savelli, D., Gabucci, C., Aquilanti, L. & Osimani, A. (2025). Comprehensive profiling of smoked cheese from raw goat's milk handcrafted in Lower Silesia (Poland). *Food Research International*, 211, 116398. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2025.116398>
68. Cardinali, F., Rampanti, G., Paderni, G., Milanović, V., Ferrocino, I., Reale, A., Boscaino, F., Raicevic, N., Ilincic, M., Osimani, A., Aquilanti, L., Martinovic, A. & Garofalo, C. (2024a). A comprehensive study on the autochthonous microbiota, volatilome, physico-chemical, and morpho-textural features of Montenegrin Njeguški cheese. *Food Research International*, 197(1), 115169. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.115169>
69. Carmen, S., LeBlanc, A., Miyoshi, A., Azevedo, V., Bermúdez-Humarán, L., Langella, P. & LeBlanc, J. (2013). Anti-inflammatory properties of genetically modified lactic acid bacteria. In R. Watson, & V. Preedy (Eds.), *Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases* (pp. 581-600). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397156-2.00225-8>
70. Caron, T., Piver, M., Péron, A., Lieben, P., Lavigne, R., Brunel, S., Roueyre, D., Place, M., Bonnarme, P., Giraud, T., Branca, A., Landaud, S. & Chassard, C. (2021). Strong effect of *Penicillium roqueforti* populations on volatile and metabolic compounds responsible for aromas, flavor and texture in blue cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 354, 109174. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109174>
71. Carr, F., Chill, D. & Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4), 281-370. <https://doi.org/10.1080/1040-840291046759>
72. Carrasco de Mendoza, M., Scarini, H., Garat, M. & Simonetta, A. (1992). Technological properties of enterococci in lactic starters: acidifying and lipolytic activities. *Microbiologie, Aliments, Nutrition*, 10, 289-293.
73. Carrero-Puentes, S., Fuenmayor, C., Jiménez-Pérez, C., Guzmán-Rodríguez, F., Gómez-Ruiz, L., Rodríguez-Serrano, G., Alatorre-Santamaría, S., García-Garibay, M. & Cruz-Guerrero, A. (2021). Development and characterization of an exopolysaccharide-functionalized acid whey cheese (Requesón) using *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(6), e16095. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16095>

74. Castellano, P., Belfiore, C., Fadda, S. & Vignolo, G. (2008). A review of bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina. *Meat Science*, 79(3), 483-499. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.10.009>
75. Castillo, I., Calvo, M., Alonso, L., Juárez, M. & Fontecha, J. (2007). Changes in lipolysis and volatile fraction of a goat cheese manufactured employing a hygienized rennet paste and a defined strain starter. *Food Chemistry*, 100(2), 590-598. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.081>
76. Castro, R., Oliveira, L., Sant'Anna, F., Luiz, L., Sandes, S., Silva, C., Silva, A., Nunes, A., Penna, C. & Souza, M. (2016). Lactic acid microbiota identification in water, raw milk, endogenous starter culture, and fresh Minas artisanal cheese from the Campo das Vertentes region of Brazil during the dry and rainy seasons. *Journal of Dairy Science*, 99(8), 6086-6096. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10579>
77. Cavanagh, D., Fitzgerald, G. & McAuliffe, O. (2015). From field to fermentation: The origins of *Lactococcus lactis* and its domestication to the dairy environment. *Food Microbiology*, 47, 45-61. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.001>
78. Ceballos, L., Morales, E., de la Torre Adarve, G., Castro, J., Martínez, L. & Sampelayo, M. (2009). Composition of goat and cow milk produced under similar conditions and analyzed by identical methodology. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(4), 322-329. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.10.020>
79. Cesaro, C., Mannozi, C., Lepre, A., Ferrocino, I., Belleggia, L., Corsi, L., Ruschioni, S., Isidoro, N., Riolo, P., Petruzzelli, A., Savelli, D., Milanović, V., Cardinali, F., Garofalo, C., Cocolin, L., Aquilanti, L. & Osimani, A. (2022). *Staphylococcus aureus* artificially inoculated in mealworm larvae rearing chain for human consumption: Long-term investigation into survival and toxin production. *Food Research International*, 162, 112083. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112083>
80. Chang, C., Teng, P., Lee, T. & Yu, B. (2020). Effects of multi-strain probiotic supplementation on intestinal microbiota, tight junctions, and inflammation in young broiler chickens challenged with *Salmonella enterica* subsp. *enterica*. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(11), 1797-1808. <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0427>
81. Chen, Z., Xie, W., Wei, Z., Sheng, B., Xue, X. & Chen, S. (2025). Impact of lactic acid bacteria coculture on the quality characteristics of goat cheese during ripening. *Journal of Dairy Science*, 108(12), 13225-13240. <https://doi.org/10.3168/jds.2025-26760>
82. Cheriguene, A., Chougrani, F. & Bensoltane, A. (2006). Identification and Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Goat's Milk. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9, 1242-1249. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2006.1242.1249>
83. Chourasia, R., Chiring Phukon, L., Minhajul Abedin, M., Sahoo, D. & Kumar Rai, A. (2022). Production and characterization of bioactive peptides in novel functional soybean chhurpi produced using *Lactobacillus delbrueckii* WS4. *Food Chemistry*, 387, 132889. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132889>
84. Ciocia, F., McSweeney, P., Piraino, P. & Parente, E. (2013). Use of dairy and non-dairy *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum* and *Lactobacillus pentosus* strains as adjuncts in cheddar cheese. *Dairy Science & Technology*, 93, 623-640. <https://doi.org/10.1007/s13594-013-0131-8>

85. Claesson, M., van Sinderen, D. & O'Toole, P. (2007). The genus *Lactobacillus* - a genomic basis for understanding its diversity. *FEMS Microbiology Letters*, 269(1), 22-28. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00596.x>
86. Claeys, W., Verraes, C., Cardoen, S., De Block, J., Huyghebaert, A., Raes, K., Dewettinck, K. & Herman, L. (2014). Consumption of raw or heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Control*, 42, 188-201.
87. Coelho Nepomuceno, R., Gonçalves Costa, L. & Bueno Costa, R. (2016). Exopolysaccharide-producing culture in the manufacture of Prato cheese. *LWT - Food Science and Technology*, 72, 383-389. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.053>
88. Coelho, M., Malcata, F. & Silva, C. (2022). Lactic Acid Bacteria in Raw-Milk Cheeses: From Starter Cultures to Probiotic Functions. *Foods*, 11(15), 2276. <https://doi.org/10.3390/foods11152276>
89. Collins, Y. & Wilkinson, M. (2003b). Evidence of a relationship between autolysis of starter bacteria and lipolysis in cheddar cheese during ripening. *The Journal of Dairy Research*, 70(1), 105-113. <https://doi.org/10.1017/s0022029902005915>
90. Collins, Y., McSweeney, P. & Wilkinson, M. (2003a). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal*, 13(11), 841-866. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00109-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00109-2)
91. Colombo, E., Franzetti, L., Frusca, M. & Scarpellini, M. (2010). Phenotypic and Genotypic Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Artisanal Italian Goat Cheese. *Journal of Food Protection*, 73(4), 657-662.
92. Correa-Galeote, D., Ghomari, I., Asehraou, A. & González-López, J. (2022). Revealing the bacterial abundance and diversity in brines from started Spanish-style green table olives. *LWT*, 160, 113212. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113212>
93. Costa, N., Hannon, J., Guinee, T., Auty, M., McSweeney, P. & Beresford, T. (2010). Effect of exopolysaccharide produced by isogenic strains of *Lactococcus lactis* on half-fat Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 93(8), 3469-3486. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-3008>
94. Cotter, P., Hill, C. & Ross, R. (2005). Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nature Reviews Microbiology*, 3, 777-788. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1273>
95. Coulon, J., Delacroix-Buchet, A., Martin, B. & Pirisi, A. (2004). Relationships between ruminant management and sensory characteristics of cheeses: a review. *Le Lait*, 84, 221-241. <https://doi.org/10.1051/lait:2004008>
96. Daba, G. & Elkhateeb, W. (2020). Bacteriocins of lactic acid bacteria as biotechnological tools in food and pharmaceuticals: Current applications and future prospects. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 28, 101750. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101750>
97. Dabour, N., Kheadr, E., Benhamou, N., Fliss, I. & LaPointe, G. (2006). Improvement of Texture and Structure of Reduced-Fat Cheddar Cheese by Exopolysaccharide-Producing Lactococci. *Journal of Dairy Science*, 89(1), 95-110. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72073-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72073-2)
98. Dagnas, S., Gauvry, E., Onno, B. & Membré, J.-M. (2015). Quantifying Effect of Lactic, Acetic, and Propionic Acids on Growth of Molds Isolated from Spoiled Bakery Products. *Journal of Food Protection*, 78(9), 1689-1698. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-046>

99. Dapkevicius, M., Sgardioli, B., Câmara, S., Poeta, P. & Malcata, F. (2021). Current Trends of Enterococci in Dairy Products: A Comprehensive Review of Their Multiple Roles. *Foods*, 10(4), 821. <https://doi.org/10.3390/foods10040821>
100. De Angelis, M. & Calasso, M. (2014). Molecular biology: Proteomics. In C. Batt, & M. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (2nd ed., pp. 793-802). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00376-1>
101. De Angelis, M. & Gobbetti, M. (2016). *Lactobacillus* SPP.: General Characteristics. *Reference Module in Food Science*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00851-9>
102. de Assis, P., Guerra, G., de Souza Araújo, D., de Araújo Júnior, R., Machado, T., de Araújo, A., de Lima, T., Garcia, H. & do Egypto, R. (2016). Intestinal anti-inflammatory activity of goat milk and goat yoghurt in the acetic acid model of rat colitis. *International Dairy Journal*, 56, 45-54. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.11.002>
103. de Oliveira, J., Antunes, A., Sales, G., Costa, C., Alves, A., de Lima, K., de Oliveira, C., do Egito, A., dos Santos, K., de Souza, E., Pacheco, M. & de Oliveira, M. (2025). Influence of Autochthonous Lactic Acid Bacteria Cultures on the Microbiota and Biogenic Amine Production in Medium-Ripened Artisan Goat Cheese. *Foods*, 14(9), 1561. <https://doi.org/10.3390/foods14091561>
104. De Santis, D., Giacinti, G., Chemello, G. & Frangipane, M. (2019). Improvement of the Sensory Characteristics of Goat Milk Yogurt. *Journal of Food Science*, 84(8), 2289-2296. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14692>
105. Decadt, H., Bongaerts, D., Weckx, S. & De Vuyst, L. (2025). Industrial Gouda cheese production shows batch-to-batch variations when using the same primary starter culture mixture as well as an impact of the brine on cheese quality. *International Dairy Journal*, 166, 106247. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2025.106247>
106. Delgado, F., González-Crespo, J., Cava, R. & Ramírez, R. (2011). Formation of the aroma of a raw goat milk cheese during maturation analysed by SPME–GC–MS. *Food Chemistry*, 129(3), 1156-1163. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.096>
107. Delgado, S., Rachid, C., Fernández, E., Rychlik, T., Alegría, A., Peixoto, R. & Mayo, B. (2013). Diversity of thermophilic bacteria in raw, pasteurized and selectively-cultured milk, as assessed by culturing, PCR-DGGE and pyrosequencing. *Food Microbiology*, 36(1), 103-111. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.04.015>
108. Delorme, C. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: *Streptococcus thermophilus*. *International Journal of Food Microbiology*, 126(3), 274-277. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.014>
109. Di Cagno, R., Quinto, M., Corsetti, A., Minervini, F. & Gobbetti, M. (2006). Assessing the proteolytic and lipolytic activities of single strains of mesophilic lactobacilli as adjunct cultures using a Caciotta cheese model system. *International Dairy Journal*, 16(2), 119-130. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.01.012>
110. Dimitrellou, D., Kandylis, P., Mallouchos, A., Komaitis, M., Koutinas, A. & Kourkoutas, Y. (2010). Effect of freeze-dried kefir culture on proteolysis in feta-type and whey-cheeses. *Food Chemistry*, 119(2), 795-800. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.052>

111. Dimitrova, T., Stoycheva, S., Bancheva, T. & Markov, N. (2021). Study on some physicochemical parameters in goat's milk and white brined cheese in three goat breeds. *Scientific Papers. Series D. Animal Science*, 64(1).
112. Dufossé, L., Galaup, P., Carlet, E., Flamin, C. & Valla, A. (2005). Spectrocolorimetry in the CIE L\*a\*b\* color space as useful tool for monitoring the ripening process and the quality of PDO red-smear soft cheeses. *Food Research International*, 38(8-9), 919-924. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.02.013>
113. Ebadi Nezhad, S., Edalatian Dovom, M., Habibi Najafi, M., Yavarmanesh, M. & Mayo, B. (2020). Technological characteristics of *Lactobacillus* spp. isolated from Iranian raw milk Motal cheese. *LWT*, 133, 110070. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110070>
114. EFSA (2017). Scientific Opinion on the update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA. *EFSA Journal. European Food Safety Authority*, 15(3), e04664.
115. EFSA (2011). Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA Journal*, 9(10), 2393. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2393>
116. Eftimova, E., Pacinovski, N. & Palaševska, A. (2022). Goat breeding in the Republic of North Macedonia - Situation and perspective. *Macedonian Journal of Animal Science*, 12(1-2), 13-20. <https://www.doi.org/10.54865/mjas22121-2013e>
117. Ekici, K. & Omer, A. (2020). Biogenic amines formation and their importance in fermented foods. *BIO Web of Conferences*, 17, 00232. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20201700232>
118. El-Din, B., El-Soda, M. & Ezzat, N. (2002). Proteolytic, lipolytic and autolytic activities of enterococci strains isolated from Egyptian dairy products. *Lait*, 82, 289-304. <https://doi.org/10.1051/lait:2002011>
119. El-Hatmi, H., Jrad, Z., Salhi, I., Aguiabi, A., Nadri, A. & Khorchani, T. (2015). Comparison of composition and whey protein fractions of human, camel, donkey, goat and cow milk. *Mljekarstvo*, 65(3), 159-167. <https://doi.org/10.15567/MLJEKARSTVO.2015.0302>
120. El-Soda, M., El-Wahab, H., Ezzat, N., Desmazeaud, M. & Ismail, A. (1986). The esterolytic and lipolytic activities of the Lactobacilli. II. Detection of the esterase system of *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus lactis* and *Lactobacillus acidophilus*. *Le Lait*, 66(4), 431-443.
121. Endo, A., Maeno, S. & Liu, S. (2022). Lactic acid bacteria: *Leuconostoc* spp. In P. McSweeney, & J. McNamara (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (3rd ed.). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00859-3>
122. Esen, Y. & Çetin, B. (2021). Bacterial and yeast microbial diversity of the ripened traditional middle east surk cheese. *International Dairy Journal*, 117, 105004. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105004>
123. Esteban-Torres, M., Mancheño, J. M., de las Rivas, B. & Muñoz, R. (2014). Production and characterization of a tributyrin esterase from *Lactobacillus plantarum* suitable for cheese lipolysis. *Journal of Dairy Science*, 97(11), 6737-6744. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8234>
124. Everett, D. & Auty, M. (2008). Cheese structure and current methods of analysis. *International Dairy Journal*, 17(7), 759-773. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.012>

125. FAO/WHO. (2001). *Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powdered milk with live lactic acid bacteria: Report of a joint FAO/WHO expert consultation*. <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/y6398e>
126. Fariás, M., Fariás, R., De Ruiz Holgado, A. & Sesma, F. (1996). Purification and N-terminal amino acid sequence of Enterocin CRL 35, a ‘pediocin-like’ bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* CRL 35. *Letters in Applied Microbiology*, 22(6), 417-419. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1996.tb01193.x>
127. Favaro, L., Basaglia, M., Casella, S., Hue, I., Dousset, X., Gombossy de Melo Franco, B. & Todorov, S. (2014). Bacteriocinogenic potential and safety evaluation of non-starter *Enterococcus faecium* strains isolated from home made white brine cheese. *Food Microbiology*, 38, 228-239. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.09.008>
128. Fekadu, B., Soryal, K., Zeng, S., Van Hekken, D., Bah, B. & Villaquiran, M. (2005). Changes in goat milk composition during lactation and their effect on yield and quality of hard and semi-hard cheeses. *Small Ruminant Research*, 59(1), 55-63. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2004.12.003>
129. Fernández, L., Beerthuyzen, M., Brown, J., Siezen, R., Coolbear, T., Holland, R. & Kuipers, O. (2000). Cloning, Characterization, Controlled Overexpression, and Inactivation of the Major Tributyrin Esterase Gene of *Lactococcus lactis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(4), 1360-1368. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.4.1360-1368.2000>
130. Fijan, S. (2014). Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(5), 4745-4767. <https://doi.org/10.3390/ijerph110504745>
131. Fiorino, G., Tlais, A., Losito, I., Filannino, P., Gobbetti, M. & Di Cagno, R. (2023). Triacylglycerols hydrolysis and hydroxy- and epoxy-fatty acids release during lactic fermentation of plant matrices: An extensive study showing inter- and intra-species capabilities of lactic acid bacteria. *Food Chemistry*, 412, 135552. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135552>
132. Fischer, S., Mariani Corea, N., Euler, A., Bertels, L. & Titgemeyer, F. (2025). Comparative Analyses of *Pediococcus pentosaceus* Strains Isolated from Milk Cattle Reveal New Insights for Screening Food-Protective Cultures. *Microorganisms*, 13(10), 2244. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13102244>
133. Foegeding, E. & Drake, M. (2007). Invited review: Sensory and mechanical properties of cheese texture. *Journal of Dairy Science*, 90(4), 1611-1624. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-703>
134. Fox, P., Guinee, T., Cogan, T. & McSweeney, P. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*. Aspen Publishers Inc.
135. Fox, P., Guinee, T., Cogan, T. & McSweeney, P. (2017a). Biochemistry of cheese ripening. In *Fundamentals of Cheese Science* (2nd ed., pp. 391-442). Springer.
136. Fox, P., Guinee, T., Cogan, T. & McSweeney, P. (2017b). Microbiology of cheese ripening. In *Fundamentals of Cheese Science* (2nd ed., pp. 333-390). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9_11)
137. Franz, C., Cho, G., Holzappel, W. & Gálvez, A. (2010). Safety of lactic acid bacteria. In F. Mozzi, R. Raya & G. Vignolo (Eds.), *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel*

- Applications* (pp. 341-359). Blackwell Publishing.  
<https://doi.org/10.1002/9780813820866.ch19>
138. Fu, X., Lyu, L., Wang, Y., Zhang, Y., Guo, X., Chen, Q. & Liu, C. (2022). Safety assessment and probiotic characteristics of *Enterococcus lactis* JDM1. *Microbial Pathogenesis*, 163, 105380. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105380>
139. Gagnon, M., Ouamba, A., LaPointe, G., Chouinard, P. & Roy, D. (2020). Prevalence and abundance of lactic acid bacteria in raw milk associated with forage types in dairy cow feeding. *Journal of Dairy Science*, 103(7), 5931-5946. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17918>
140. Gámbaro, A., González, V., Jiménez, S., Arechavaleta, A., Irigaray, B., Callejas, N., Grompone, M. & Vieitez, I. (2017). Chemical and sensory profiles of commercial goat cheeses. *International Dairy Journal*, 69, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.01.009>
141. Gantner, V., Mijić, P., Baban, M., Škrtić, Z. & Turalija, A. (2015). The overall and fat composition of milk of various species. *Mljekarstvo*, 65(4), 223-231.
142. Gao, Y., Liang, Q., Sun, J., Wu, X., Song, Y., Xu, Y., Nie, H., Huang, J. & Mu, G. (2025). Probiotic potential of lactic acid bacteria with antioxidant properties in modulating health: Mechanisms, applications, and future directions. *Food Bioscience*, 66, 106181. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.106181>
143. Garabal, J. (2007). Biodiversity and the survival of autochthonous fermented products. *International Microbiology: The Official Journal of the Spanish Society for Microbiology*, 10(1), 1-3. <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.1>
144. García, M., Rodríguez, M., Bernardo, A., Tornadijo, M. & Carballo, J. (2002). Study of enterococci and micrococci isolated throughout manufacture and ripening of San Simón cheese. *Food Microbiology*, 19(1), 23-33. <https://doi.org/10.1006/fmic.2001.0457>
145. García, V., Rovira, S., Boutoial, K. & López, M. (2014). Improvements in Goat Milk Quality: A Review. *Small Ruminant Research*, 121, 51-57.
146. García-Cano, I., Rocha-Mendoza, D., Ortega-Anaya, J., Wang, K., Kosmerl, E. & Jiménez-Flores, R. (2019). Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers of lipolytic, proteolytic and antibacterial proteins. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(13), 5243-5257. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09844-6>
147. Gardini, F., Özogul, Y., Suzzi, G., Tabanelli, G. & Özogul, F. (2016). Technological Factors Affecting Biogenic Amine Content in Foods: A Review. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1218. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01218>
148. Georgalaki, M., Anastasiou, R., Zoumpopoulou, G., Charmpi, C., Lazaropoulos, G., Bounenni, R., Papadimitriou, K. & Tsakalidou, E. (2025). Feta cheese: A pool of Non-Starter Lactic Acid Bacteria (NSLAB) with anti-hypertensive potential. *International Dairy Journal*, 162, 106144. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2024.106144>
149. Gerber, E., Bernard, R., Castang, S., Chabot, N., Coze, F., Dreux-Zigha, A., Hauser, E., Hivin, P., Joseph, P., Lazarelli, C., Letellier, G., Olive, J. & Leonetti, J. (2015). *Deinococcus* as new chassis for industrial biotechnology: biology, physiology and tools. *Journal of Applied Microbiology*, 119(1), 1-10. <https://doi.org/10.1111/jam.12808>
150. Gergova, R., Boyanov, V., Muhtarova, A. & Alexandrova, A. (2024). A Review of the Impact of Streptococcal Infections and Antimicrobial Resistance on Human Health. *Antibiotics*, 13(4), 360. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13040360>

151. Geronikou, A., Larsen, N., Lillevang, S. & Jespersen, L. (2023). Diversity and succession of contaminating yeasts in white-brined cheese during cold storage. *Food Microbiology*, 113, 104266. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104266>
152. Giagnoni, L., Deb, S., Tondello, A., Zardinoni, G., De Noni, M., Franchin, C., Vanzin, A., Arrigoni, G., Masi, A., Stevanato, P., Cecchinato, A., Squartini, A. & Spanu, C. (2023). The impact of milk storage temperatures on cheese quality and microbial communities at dairy processing plant scale. *Food Research International*, 172, 113101. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113101>
153. Gomes, J., Duarte, A., Batista, A., Figueiredo, R., Sousa, E., Souza, E. & Queiroga, R. (2013). Physicochemical and sensory properties of fermented dairy beverages made with goat's milk, cow's milk and a mixture of the two milks. *LWT - Food Science and Technology*, 54(1), 18-24. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.04.022>
154. Gooch, H., Kiu, R., Rudder, S., Baker, D., Hall, L. & Maxwell, A. (2021). *Enterococcus innesii* sp. nov., isolated from the wax moth *Galleria mellonella*. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 71(12), 005168. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005168>
155. Grujović, M., Marković, K., Morais, S. & Semedo-Lemsaddek, T. (2024). Unveiling the Potential of Lactic Acid Bacteria from Serbian Goat Cheese. *Foods*, 13(13), 2065. <https://doi.org/10.3390/foods13132065>
156. Gruter, M., Leeftang, B., Kuiper, J., Kamerling, J. & Vliegthart, J. (1992). Structure of the exopolysaccharide produced by *Lactococcus lactis* subspecies *cremoris* H414 grown in a defined medium or skimmed milk. *Carbohydrate Research*, 231, 273-291.
157. Guarrasi, V., Sannino, C., Moschetti, M., Bonanno, A., Di Grigoli, A. & Settanni, L. (2017). The individual contribution of starter and non-starter lactic acid bacteria to the volatile organic compound composition of Caciocavallo Palermitano cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 259, 35-42. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.07.022>
158. Gueguen, L. & Pointillart, A. (2000). The bioavailability of dietary calcium. *Journal of the American College of Nutrition*, 19, 119S-136S.
159. Guessas, B. & Kihal, M. (2004). Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goats' milk. *African Journal of Biotechnology*, 3(6), 339-342.
160. Gul, S. & Durante-Mangoni, E. (2024). Unraveling the Puzzle: Health Benefits of Probiotics-A Comprehensive Review. *Journal of Clinical Medicine*, 13(5), 1436. <https://doi.org/10.3390/jcm13051436>
161. Güney, I. & Ocak, S. (2013). Consumer Preference for Goat Milk in Turkey. *Global Advanced Research Journal of Agricultural Science*, 2(7), 181-188.
162. Güney, O. & Sangün, S. (2019). Determination of consumers' intention to purchase goat milk: the case of the Mediterranean Region. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi/ Journal of Agricultural Sciences*, 34, 289-295. <https://doi.org/10.7161/omuanajas.560984>
163. Gutierrez-Cortes, C., Suarez, H., Butirago, G., Nero, L. & Todorov, S. (2018). Characterization of bacteriocins produced by strains of *Pediococcus pentosaceus* isolated from Minas cheese. *Annals of Microbiology*, 68, 383-398. <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1345-z>

164. Haastrup, M., Johansen, P., Malskær, A., Castro-Mejía, J., Kot, W., Krych, L., Arneborg, N. & Jespersen, L. (2018). Cheese brines from Danish dairies reveal a complex microbiota comprising several halotolerant bacteria and yeasts. *International Journal of Food Microbiology*, 285, 173-187. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.015>
165. Hadeif, L., Hamad, B. & Bellabidi, M. (2024). A Critical Analysis of the Impact of Consumer Attitudes and Perception on Goat Milk Consumption and Influencing Factors. *Pakistan Journal of Life and Social Sciences*, 22(2), 3555-3575.
166. Halici Demir, F. & Kaptan, B. (2025). Identification of lactic acid bacteria isolated from the protected geographical indication Edirne white cheese using MALDI-TOF MS: Impact of ripening time and type of milk on microbial diversity. *International Dairy Journal*, 162, 106156. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2024.106156>
167. Hammam, A., Salman, S., Elfaruk, M. & Alsaleem, K. (2022). Goat milk: compositional, technological, nutritional, and therapeutic aspects. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 41(4), 367-376. <http://doi.org/10.18805/ajdfr.DRF-261>
168. Hammer, P., Jordan, J., Jacobs, C. & Klempt, M. (2019). Characterization of coagulase-negative staphylococci from brining baths in Germany. *Journal of Dairy Science*, 102(10), 8734-8744. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15610>
169. Hammes, W. & Vogel, R. (1995). The genus *Lactobacillus*. In B. Wood, & W. Holzapfel (Eds.), *The Genera of Lactic Acid Bacteria*. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5817-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5817-0_3)
170. Hamzehlou, P., Akhavan Sepahy, A., Mehrabian, S. & Hosseini, F. (2018). Production of Vitamins B3, B6 and B9 by *Lactobacillus* Isolated from Traditional Yogurt Samples from 3 Cities in Iran, Winter 2016. *Applied Food Biotechnology*, 5(2), 107-120.
171. Hanchi, H., Mottawea, W., Sebei, K. & Hammami, R. (2018). The Genus *Enterococcus*: Between Probiotic Potential and Safety Concerns-An Update. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01791>
172. Hatti-Kaul, R., Chen, L., Dishisha, T. & Enshasy, H. (2018). Lactic acid bacteria: from starter cultures to producers of chemicals. *FEMS Microbiology Letters*, 365(20). <https://doi.org/10.1093/femsle/fny213>
173. Hayaloglu, A. (2017). Cheese varieties ripened under brine. In P. McSweeney, P. Fox, P. Cotter, & D. Everett (Eds.), *Cheese*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00039-9>
174. Hayaloglu, A., Tolu, C., Yasar, K. & Sahingil, D. (2013). Volatiles and sensory evaluation of goat milk cheese Gokceada as affected by goat breeds (Gokceada and Turkish Saanen) and starter culture systems during ripening. *Journal of Dairy Science*, 96(5), 2765-2780. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6170>
175. Hayaloglu, A., Guven, M., Fox, P., Hannon, J. & McSweeney, P. (2004). Proteolysis in Turkish White-brined cheese made with defined strains of *Lactococcus*. *International Dairy Journal*, 14(7), 599-610. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.12.008>
176. Hemme, D. & Foucaud-Scheunemann, C. (2004). *Leuconostoc*, characteristics, use in dairy technology and prospects in functional foods. *International Dairy Journal*, 14(6), 467-494. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.10.005>
177. Hernández-Figueroa, R., López-Malo, A. & Mani-López, E. (2025). Lactic Acid Bacteria-Derived Exopolysaccharides: Dual Roles as Functional Ingredients and

- Fermentation Agents in Food Applications. *Fermentation*, 11(9), 538. <https://doi.org/10.3390/fermentation11090538>
178. Hickey, C., Auty, M., Wilkinson, M. & Sheehan, J. (2017). Influence of process temperature and salting methods on starter and NSLAB growth and enzymatic activity during the ripening of cheeses produced with *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus helveticus*. *International Dairy Journal*, 69, 9-18. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.12.015>
179. Hickey, D., Guinee, T., Hou, J. & Wilkinson, M. (2013). Effects of variation in cheese composition and maturation on water activity in Cheddar cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 30(1), 53-58. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.11.006>
180. Hilbig, J., Hildebrandt, L., Herrmann, K., Weiss, J. & Loeffler, M. (2020). Influence of homopolysaccharide-producing lactic acid bacteria on the spreadability of raw fermented sausages (onion mettwurst). *Journal of Food Science*, 85(2), 289-297. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15010>
181. Hippe, B., Zwieler, J., Pirker, A., Smith, W. & Haslberger, A. (2011). Detection and identification of probiotic microorganisms and other beneficial organisms from the human GI tract. In M. Liong (Ed.), *Probiotics* (pp. 57-86). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-20838-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-642-20838-6_3)
182. Hols, P., Hancy, F., Fontaine, L., Grossiord, B., Prozzi, D., Leblond-Bourget, N., Decaris, B., Bolotin, A., Delorme, C., Dusko Ehrlich, S., Guédon, E., Monnet, V., Renault, P. & Kleerebezem, M. (2005). New insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative genomics. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(3), 435-463.
183. Honrada Perez, R., Zendo, T. & Sonomoto, K. (2022). Multiple bacteriocin production in lactic acid bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 134(4), 277-287. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2022.07.007>
184. Ianni, A., Bennato, F., Martino, C., Grotta, L., Franceschini, N. & Martino, G. (2020). Proteolytic Volatile Profile and Electrophoretic Analysis of Casein Composition in Milk and Cheese Derived from Mironutrient-Fed Cows. *Molecules*, 25, 2249. <https://doi.org/10.3390/molecules25092249>
185. Ibrahim, S., Ayivi, R., Zimmerman, T., Siddiqui, S., Altemimi, A., Fidan, H., Esatbeyoglu, T. & Bakhshayesh, R. (2021). Lactic Acid Bacteria as Antimicrobial Agents: Food Safety and Microbial Food Spoilage Prevention. *Foods*, 10(12), 3131. <https://doi.org/10.3390/foods10123131>
186. IDF (2022). Heat treatment of milk. Brussels, Belgium: International Dairy Federation (IDF) AISBL. <https://doi.org/10.56169/XMDR7579>
187. Ihsan, M., Valdramidis, V. & Griffin, S. (2025). Bacterial and fungal profiling of Maltese sheep cheese with amplicon metabarcoding. *International Dairy Journal*, 170, 106362. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2025.106362>
188. Ishikawa, M., Nakajima, K., Yanagi, M., Yamamoto, Y. & Yamasato, K. (2003). *Marinilactibacillus psychrotolerans* gen. nov., sp. nov., a halophilic and alkaliphilic marine lactic acid bacterium isolated from marine organisms in temperate and subtropical areas of Japan. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(3), 711-720. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02446-0>

189. İspirli, H., Demirbaş, F. & Dertli, E. (2017). Characterization of functional properties of *Enterococcus* spp. isolated from Turkish white cheese. *LWT*, 75, 358-365. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.09.010>
190. Jang, H., Lee, N. & Paik, H. (2024). Overview of Dairy-based Products with Probiotics: Fermented or Non-fermented Milk Drink. *Food Science of Animal Resources*, 44(2), 255-268. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2023.e83>
191. Jay, J., Loessner, M. & Golden, D. (2005). Milk, fermentation, and fermented and nonfermented dairy products. In *Modern Food Microbiology* (7th ed., pp. 149-173). Springer. [https://doi.org/10.1007/0-387-23413-6\\_7](https://doi.org/10.1007/0-387-23413-6_7)
192. Jenness, R. (1980). Composition and Characteristics of Goat Milk: Review 1968-1979. *Journal of Dairy Science*, 63(10), 1605-1630. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)83125-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)83125-0)
193. Jo, Y., Benoist, D. M., Barbano, D. M. & Drake, M. A. (2018). Flavor and flavor chemistry differences among milks processed by high-temperature, short-time pasteurization or ultra-pasteurization. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 3812-3828. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14071>
194. Johnson, A. & Sommer, D. (2020). Essential principles of cheese making (part 2): measuring and controlling acidity and moisture. *Dairy Pipeline*, 31(4), 1-12.
195. Josifovska, S., Posheva, V., Doytchinov, V., Papadimitriou, K., Bazukyan, I., Gotcheva, V. & Dimov, S. (2024). Amplicon-based metagenomic characterization of the microbiome of the traditional “Bieno” cheese produced in North Macedonia. *Food Bioscience*, 57, 103552. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103552>
196. Juillard, V., Lopez-Kleine, L. & Monnet, V. (2022). Lactic acid bacteria: Proteolytic systems. In P. McSweeney, & J. McNamara (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (3rd ed., Vol. 4, pp. 249-255). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00862-3>
197. Kamimura, B., Cabral, L., Noronha, M., Baptista, R., Nascimento, H. & Sant'Ana, A. (2020). Amplicon sequencing reveals the bacterial diversity in milk, dairy premises and Serra da Canastra artisanal cheeses produced by three different farms. *Food Microbiology*, 89, 103453. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103453>
198. Kanjan, P. & Sakpetch, P. (2023). Effect of antifungal compounds secreted by *Lactiplantibacillus plantarum* 124 against *Aspergillus flavus* and *Penicillium* sp. and its application in Kaeng-Tai-Pla-Haeng to extend the shelf life. *International Journal of Food Science & Technology*, 58(10), 5376-5387. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16656>
199. Kapac-Parkaceva, N. (1988). Tehnologija na prerabotki od mleko.
200. Katsiari, M., Alichanidis, E., Voutsinas, L. & Roussis, I. (2000). Proteolysis in reduced sodium Feta cheese made by partial substitution of NaCl by KCl. *International Dairy Journal*, 10(9), 635-646. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(00\)00097-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(00)00097-2)
201. Khan, I., Dutta, J. & Ganesan, R. (2017). *Lactobacillus* sps. lipase mediated poly ( $\epsilon$ -caprolactone) degradation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 126-131. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.040>
202. Khattab, A., Guirguis, H., Tawfik, S. & Farag, M. (2019). Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 343-360. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.009>

203. Kholif, A. & Kholif, A. (2025). Organic acid-treated ensiled date palm leaves improve texture and sensory quality of white soft cheese from Farafra sheep milk in arid environments. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 69, 103798. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2025.103798>
204. Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K. & Kot, A. (2021). Characteristics of the Proteolytic Enzymes Produced by Lactic Acid Bacteria. *Molecules*, 26(7), 1858. <https://doi.org/10.3390/molecules26071858>
205. Kim, D., Kim, S., Jo, N., Bae, J., Nguyen, M., Jo, Y. & Han, N. (2023). Phenotypic and genomic analyses of bacteriocin-producing probiotic *Enterococcus faecium* EFEL8600 isolated from Korean soy-meju. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1237442. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1237442>
206. Kim, E., Kim, H.-B., Yang, S.-M., Kim, D. & Kim, H.-Y. (2021). Real-time PCR assay for detecting *Lactobacillus plantarum* group using species/subspecies-specific genes identified by comparative genomics. *LWT*, 138, 110789. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110789>
207. Kim, K.-T., Kim, J.-W., Kim, S.-I., Kim, S., Nguyen, T. & Kang, C. (2021). Antioxidant and Anti-Inflammatory Effect and Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Canine and Feline Feces. 2021, 9, 1971. *Microorganisms*, 9(9), 1971. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091971>
208. Kimoto-Nira, H., Aoki, R., Mizumachi, K., Sasaki, K., Naito, H., Sawada, T. & Suzuki, C. (2012). Interaction between *Lactococcus lactis* and *Lactococcus raffinolactis* during growth in milk: Development of a new starter culture. *Journal of Dairy Science*, 95(4), 2176-2185. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4824>
209. Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M. & Glöckner, F. (2013). Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*, 41(1), <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>
210. Kocak, A., Sanli, T., Anli, E. & Hayaloglu, A. (2020). Role of using adjunct cultures in release of bioactive peptides in white-brined goat-milk cheese. *LWT*, 123, 109127. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109127>
211. Kondrotiene, K., Zavistanaviciute, P., Aksomaitiene, J., Novoslavskij, A. & Malakauskas, M. (2024). *Lactococcus lactis* in Dairy Fermentation - Health-Promoting and Probiotic Properties. *Fermentation*, 10(1), 16. <https://doi.org/10.3390/fermentation10010016>
212. Kondyli, E., Katsiari, M. & Voutsinas, L. (2007). Variations of vitamin and mineral contents in raw goat milk of the indigenous Greek breed during lactation. *Food Chemistry*, 100(1), 226-230. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.038>
213. Kondyli, E., Pappa, E. & Svarnas, C. (2016). Ripening changes of the chemical composition, proteolysis, volatile fraction and organoleptic characteristics of a white-brined goat milk cheese. *Small Ruminant Research*, 145, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.10.022>
214. Kong, Y., Feng, M. & Sun, J. (2020). Effects of *Lactobacillus plantarum* CD101 and *Staphylococcus simulans* NJ201 on proteolytic changes and bioactivities (antioxidant and

- antihypertensive activities) in fermented pork sausage. *LWT*, 133, 109985. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109985>
215. Kontodimos, I., Chatzimanoli, E., Kasapidou, E., Basdagianni, Z., Karatzia, M.-A., Amanatidis, M. & Margaritis, N. (2023). Characterization of Bioactive Compounds and Element Content in Goat Milk and Cheese Products. *Biology and Life Sciences Forum*, 26(1), 98. <https://doi.org/10.3390/Foods2023-15131>
216. Konuspayeva, G., Baubekova, A., Akhmetsadykova, S. & Faye, B. (2023). Traditional dairy fermented products in Central Asia. *International Dairy Journal*, 137, 105514. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105514>
217. Korakli, M. & Vogel, R. (2006). Structure/function relationship of homopolysaccharide producing glycosyltransferases and therapeutic potential of their synthesised glycans. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71(6), 790-803. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0469-4>
218. Krawczyk, B., Wityk, P., Gałęcka, M. & Michalik, M. (2021). The Many Faces of *Enterococcus* spp.-Commensal, Probiotic and Opportunistic Pathogen. *Microorganisms*, 9(9), 1900. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091900>
219. Kumari, S. & Sarkar, P. (2016). *Bacillus cereus* hazard and control in industrial dairy processing environment. *Food Control*, 69, 20-29. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.012>
220. Kurekci, C. (2016). Short communication: Prevalence, antimicrobial resistance, and resistant traits of coagulase-negative staphylococci isolated from cheese samples in Turkey. *Journal of Dairy Science*, 99(4), 2675-2679. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10725>
221. Ladero, V., Fernández, M., Calles-Enríquez, M., Sánchez-Llana, E., Cañedo, E., Martín, M. & Alvarez, M. A. (2012). Is the production of the biogenic amines tyramine and putrescine a species-level trait in enterococci? *Food Microbiology*, 30(1), 132-138. , 30(1), 132-138. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.12.016>
222. Landete, J. M. (2017). A review of food-grade vectors in lactic acid bacteria: from the laboratory to their application. *Critical Reviews in Biotechnology*, 37(3), 296-308. <https://doi.org/10.3109/07388551.2016.1144044>
223. Landi, N., Ragucci, S. & Di Maro, A. (2021). Amino Acid Composition of Milk from Cow, Sheep and Goat Raised in Ailano and Valle Agricola, Two Localities of 'Alto Casertano' (Campania Region). *Foods*, 10(10), 2431.
224. Latif, A., Shehzad, A., Niazi, S., Zahid, A., Ashraf, W., Iqbal, M., Rehman, A., Riaz, T., Aadil, R., Khan, I., Özogul, F., Rocha, J., Esatbeyoglu, T. & Korma, S. (2023). Probiotics: mechanism of action, health benefits and their application in food industries. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1216674. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1216674>
225. Lauková, A., Focková, V. & Pogány Simonová, M. (2020). *Enterococcus mundtii* Isolated from Slovak Raw Goat Milk and Its Bacteriocinogenic Potential. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17, 9504. <https://doi.org/10.3390/ijerph17249504>
226. Lavilla-Lerma, L., Pérez-Pulido, R., Martínez-Bueno, M., Maqueda, M. & Valdivia, E. (2013). Characterization of functional, safety, and gut survival related characteristics of *Lactobacillus* strains isolated from farmhouse goat's milk cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 163(2-3), 136-145. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.02.015>

227. Léguillier, V., Pinamonti, D., Chang, C.-M., Gunjan, M., Himanshu, C., Manzano, M., Anba-Mondoloni, J., Malet-Villemagne, J. & Vidic, J. (2024). A review and meta-analysis of *Staphylococcus aureus* prevalence in foods. *The Microbe*, 4, 100131. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2024.100131>
228. Leisner, J., Laursen, B., Prévost, H., Drider, D. & Dalgaard, P. (2007). *Carnobacterium*: positive and negative effects in the environment and in foods. *FEMS Microbiology Reviews*, 31(5), 592-613. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00080.x>
229. Leyva Salas, M., Mounier, J., Valence, F., Coton, M., Thierry, A. & Coton, E. (2017). Antifungal Microbial Agents for Food Biopreservation-A Review. *Microorganisms*, 5(3). <https://doi.org/10.3390/microorganisms5030037>
230. Li, B. & Lu, S. (2020). The Importance of Amine-degrading Enzymes on the Biogenic Amine Degradation in Fermented Foods: A review. *Process Biochemistry*, 99, 331-339. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.09.012>
231. Li, C., Tian, F., Zhao, Y. & Gu, C. (2014). *Enterococcus xiangfangensis* sp. nov., isolated from Chinese pickle. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(3), 1012-1017. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.058917-0>
232. Li, T., Tian, W. & Gu, C. (2021). Elevation of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* to the species level as *Lactococcus cremoris* sp. nov. and transfer of *Lactococcus lactis* subsp. *tractae* to *Lactococcus cremoris* as *Lactococcus cremoris* subsp. *tractae* comb. nov. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 71(3), 004727. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004727>
233. Li, Y. & Gu, C. (2019). *Enterococcus pingfangensis* sp. nov., *Enterococcus dongliensis* sp. nov., *Enterococcus hulanensis* sp. nov., *Enterococcus nangangensis* sp. nov. and *Enterococcus songbeiensis* sp. nov., isolated from Chinese traditional pickle juice. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(10), 3191-3201. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003608>
234. Liang, S., Wang, X., Li, C. & Liu, L. (2024). Biological Activity of Lactic Acid Bacteria Exopolysaccharides and Their Applications in the Food and Pharmaceutical Industries. *Foods*, 13(11), 1621. <https://doi.org/10.3390/foods13111621>
235. Lima, M., Teixeira-Lemos, E., Oliveira, J., Teixeira-Lemos, L., Monteiro, A. & Costa, J. (2018). Nutritional and Health Profile of Goat Products: Focus on Health Benefits of Goat Milk. *InTech*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.70321>
236. Limsowtin, G., Broome, M. & Powell, I. (2002). LACTIC ACID BACTERIA, TAXONOMY. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 1470-1478. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227235-8/00237-6>
237. Lin, C., Moon, S., Doyle, M. & McWatters, K. (2002). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* serotype *enteritidis*, and *Listeria monocytogenes* on lettuce by hydrogen peroxide and lactic acid and by hydrogen peroxide with mild heat. *Journal of Food Protection*, 65(8), 1215-1220. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-65.8.1215>
238. Linares, D., Martín, M., Ladero, V., Alvarez, M. & Fernández, M. (2011). Biogenic Amines in Dairy Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(7), 691-703. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.582813>
239. Linares-Morales, J., Cuellar-Nevárez, G., Rivera-Chavira, B., Gutiérrez-Méndez, N., Pérez-Vega, S. & Nevárez-Moorillón, G. (2020). Selection of Lactic Acid Bacteria Isolated

- from Fresh Fruits and Vegetables Based on Their Antimicrobial and Enzymatic Activities. *Foods*, 9(10), 1399. <https://doi.org/10.3390/foods9101399>
240. Lopez, A., Vasconi, M., Moretti, V. & Bellagamba, F. (2019). Fatty Acid Profile in Goat Milk from High- and Low-Input Conventional and Organic Systems. *Animals*, 9(7), 452. <https://doi.org/10.3390/ani9070452>
241. M'hir, S., Minervini, F., Di Cagno, R., Chammem, N. & Hamdi, M. (2012). Technological, functional and safety aspects of enterococci in fermented vegetable products: a mini-review. *Annals of Microbiology*, 62, 469-481. <https://doi.org/10.1007/s13213-011-0363-x>
242. Makarijoski, B. & Najdovski, B. (2025). Monitoring of active and titratable acidity in white-brined cheese during ripening period. *Journal of Agriculture and Plant Sciences*, 22(2), 39-43. <https://doi.org/10.46763/JAPS2422239m>
243. Mal, G., Singh, B., Mane, B., Sharma, V., Sharma, R., Bhar, R. & Dhar, J. (2018). Milk Composition, Antioxidant Activities and Protein Profile of Gaddi Goat Milk. *Journal of Food Biochemistry*, 42, e12660.
244. Marcos, A. (1993). Water activity in cheese in relation to composition, stability and safety. In P. Fox (Ed.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (2nd ed., Vol. 1, pp. 439-469). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2650-6\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2650-6_11)
245. Martin, B., Verdier-Metz, I., Buchin, S., Hurtaud, C. & Coulon, J.-B. (2005). How do the nature of forages and pasture diversity influence the sensory quality of dairy livestock products? *Animal Science*, 81(2), 205-212. <https://doi.org/10.1079/ASC50800205>
246. Martinez, R., Bedani, R. & Saad, S. (2015). Scientific evidence for health effects attributed to the consumption of probiotics and prebiotics: an update for current perspectives and future challenges. *British Journal of Nutrition*, 114(12), 1993-2015. <https://doi.org/10.1017/S0007114515003864>
247. Martín-Platero, A., Maqueda, M., Valdivia, E., Purswani, J. & Martínez-Bueno, M. (2009a). Polyphasic study of microbial communities of two Spanish farmhouse goats' milk cheeses from Sierra de Aracena. *Food Microbiology*, 26(3), 294-304. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.12.004>
248. Martín-Platero, A., Valdivia, E., Maqueda, M. & Martínez-Bueno, M. (2009b). Characterization and safety evaluation of enterococci isolated from Spanish goats' milk cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 132(1), 24-32. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.03.010>
249. Mashitola, F., Akinola, S., Shoko, T., Seke, F., Sunette, L., Sultanbawa, Y. & Sivakumar, D. (2023). Effect of lactic acid fermentation on the quality and phytochemical constituent in smoothies made from the leaves of different sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) cultivars. *International Journal of Food Science and Technology*, 58(9), 4697-4714. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16576>
250. Mateva, N., Levkov, V., Sribnovska, S., Santa, D., Mojsova, S. & Sulejmani, E. (2019). Characteristics of Traditional Cheeses Produced in the Republic of North Macedonia. *Current Developments in Food and Nutrition Research*, 1, 1-52.
251. Mayer, H. & Fiechter, G. (2012). Physicochemical characteristics of goat's milk in Austria - seasonal variations and differences between six breeds. *Dairy Science & Technology*, 92, 167-177.

252. McSweeney, P. (2004). Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57, 127-144. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2004.00147.x>
253. McSweeney, P. L. H. (Ed.) (2007). *Cheese problems solved: The microbiology of cheese ripening* (pp. 117-132). *Cheese Problems Solved*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9781845693534.117>
254. McSweeney, P. & Sousa, M. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Le Lait*, 80, 293-324. <https://doi.org/10.1051/lait:2000127>
255. Merih-Kivanc, E. & Acu, E. (2022). Production of extracellular lipase by *Enterococcus faecium* E68 with olive oil waste as substrate. *Biotecnia*, 24(3), 87-93.
256. Meyers, S., Cuppett, S. & Hutkins, R. (1996). Lipase production by lactic acid bacteria and activity on butter oil. *Food Microbiology*, 13(5), 383-389. <https://doi.org/10.1006/fmic.1996.0044>
257. Mgomi, F., Yuan, L., Wang, Y., Rao, S. & Yang, Z. (2022). Physiological properties, survivability and genomic characteristics of *Pediococcus pentosaceus* for application as a starter culture. *International Journal of Dairy Technology*, 75, 588-602. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12864>
258. Miller, B. & Lu, C. (2019). Current status of global dairy goat production: an overview. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 32(8), 1219-1232. <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0253>
259. Miloradovic, Z., Smigic, N., Djekic, I., Tomasevic, I., Kljajevic, N., Nedeljkovic, A. & Miocinovic, J. (2018). The influence of NaCl concentration of brine and different packaging on goat white brined cheese characteristics. *International Dairy Journal*, 79, 24-32. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.11.010>
260. Miloradovic, Z., Tomic, N. K., Levic, S., Pavlovic, V., Blazic, M. & Miocinovic, J. (2021). High Heat Treatment of Goat Cheese Milk. The Effect on Sensory Profile, Consumer Acceptance and Microstructure of Cheese. *Foods*, 10(5), 1116. <https://doi.org/10.3390/foods10051116>
261. Milovanovic, B., Djekic, I., Miocinovic, J., Djordjevic, V., Lorenzo, J., Barba, F., Mörlein, D. & Tomasevic, I. (2020). What Is the Color of Milk and Dairy Products and How Is It Measured? *Foods*, 9(11), 1629. <https://doi.org/10.3390/foods9111629>
262. Mladenović, K., Grujović, M. K., Bulut, S., Iličić, M., Degenek, J. & Semedo-Lemsaddek, T. (2022). Serbian Traditional Goat Cheese: Physico-Chemical, Sensory, Hygienic and Safety Characteristics. *Microorganisms*, 10(1), 90. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10010090>
263. Moayedi, A., Zareie, Z., Rahmani, F., Ghorbani, M. & Tabar-Heydar, K. (2025). Investigating the potential of proteolytic *Enterococcus faecium* strains to produce probiotic whey beverage with improved aromatic attributes. *Applied Food Research*, 5(2), 101472. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.101472>
264. Mohamad, N., Manan, M. & Sani, N. (2022). The Antibacterial Activity of Lactic Acid Bacteria from Pickled *Spondias dulcis* (Ambarella) against Foodborne Pathogens. *Trends in Sciences*, 19(5), 2896. <https://doi.org/10.48048/tis.2022.2896>

265. Mojsova, S., Jankuloski, D., Sekulovski, P., Angelovski, L., Ratkova, M. & Prodanov, M. (2013). Microbiological properties and chemical composition of macedonian traditional white brined cheese. *Macedonian Veterinary Review*, 36, 13-18.
266. Mokoena, M. (2017). Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens: A Mini-Review. *Molecules*, 22(8), 1255. <https://doi.org/10.3390/molecules22081255>
267. Monareng, N., Ncube, K., van Rooi, C., Modiba, M. & Mtileni, B. (2025). A Systematic Review on Microbial Profiling Techniques in Goat Milk: Implications for Probiotics and Shelf-Life. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(12), 5551. <https://doi.org/10.3390/ijms26125551>
268. Montel, M., Buchin, S., Mallet, A., Delbes-Paus, C., Vuitton, D., Desmasures, N. & Berthier, F. (2014). Traditional cheeses: rich and diverse microbiota with associated benefits. *International Journal of Food Microbiology*, 177, 136-154. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.019>
269. Morandi, S., Silvetti, T. & Brasca, M. (2013). Biotechnological and safety characterization of *Enterococcus lactis*, a recently described species of dairy origin. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 103, 239-249. <https://doi.org/10.1007/s10482-012-9806-z>
270. Mora-Villalobos, J., Montero-Zamora, J., Barboza, N., Rojas-Garbanzo, C., Usaga, J., Redondo-Solano, M., Schroedter, L., Olszewska-Widdrat, A. & López-Gómez, J. (2020). Multi-Product Lactic Acid Bacteria Fermentations: A Review. *Fermentation*, 6(1), 23. <https://doi.org/10.3390/fermentation6010023>
271. Mozzi, F., Vaningelgem, F., Hébert, E., Van der Meulen, R., Foulquié Moreno, M., Font de Valdez, G. & De Vuyst, L. (2006). Diversity of heteropolysaccharide-producing lactic acid bacterium strains and their biopolymers. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(6), 4431-4435. <https://doi.org/10.1128/AEM.02780-05>
272. Mrkonjić Fuka, M., Wallisch, S., Engel, M., Welzl, G., Havranek, J. & Schloter, M. (2013). Dynamics of bacterial communities during the ripening process of different Croatian cheese types derived from raw ewe's milk cheeses. *PloS One*, 8(11), e80734. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080734>
273. Muehlherr, J., Zweifel, C. & Stephan, R. (2003). Microbiological quality of raw goat's and ewe's bulk-tank milk in Switzerland. *Journal of Dairy Science*, 86(12), 3849-3856. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73992-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73992-7)
274. Mukdsi, M., Haro, C., González, S. & Medina, R. (2013). Functional goat milk cheese with feruloyl esterase activity. *Journal of Functional Foods*, 5, 801-809.
275. Mullan, W. (2014). Starter cultures – importance of selected genera. In C. Batt, & M. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (2nd ed., pp. 515-521). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00321-9>
276. Naskar, A. & Kim, K. (2021). Potential Novel Food-Related and Biomedical Applications of Nanomaterials Combined with Bacteriocins. *Pharmaceutics*, 13(1), 86. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13010086>
277. Nasrollahzadeh, A., Mokhtari, S., Khomeiri, M. & Saris, P. (2022). Mycotoxin detoxification of food by lactic acid bacteria. *International Journal of Food Contamination* 9. <https://doi.org/10.1186/s40550-021-00087-w>

278. Nayik, G., Jagdale, Y., Gaikwad, S., Devkatte, A., Dar, A. & Ansari, M. (2022). Nutritional Profile, Processing and Potential Products: A Comparative Review of Goat Milk. *Dairy*, 3(3), 622-647. <https://doi.org/10.3390/dairy3030044>
279. Nelli, A., Venardou, B., Skoufos, I., Voidarou, C., Lagkouvardos, I. & Tzora, A. (2023). An Insight into Goat Cheese: The Tales of Artisanal and Industrial Gidotyri Microbiota. *Microorganisms*, 11(1), 123. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010123>
280. Nero, L., De Mattos, M., De Aguiar Ferreira Barros, M., Ortolani, M., Beloti, V. & De Melo Franco, B. (2008). *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in raw milk produced in Brazil: Occurrence and interference of indigenous microbiota in their isolation and development. *Zoonoses and Public Health*, 55(6), 299-305. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01130.x>
281. Nikolic, M., López, P., Strahinic, I., Suárez, A., Kojic, M., Fernández-García, M., Topisirovic, L., Golic, N. & Ruas-Madiedo, P. (2012). Characterisation of the exopolysaccharide (EPS)-producing *Lactobacillus paraplantarum* BGCG11 and its non-EPS producing derivative strains as potential probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 158(2), 155-162. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.07.015>
282. Nithya, A., Misra, S., Panigrahi, C., Dalbhat, C. & Mishra, H. (2023). Probiotic potential of fermented foods and their role in non-communicable diseases management: An understanding through recent clinical evidences. *Food Chemistry Advances*, 3, 100381. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100381>
283. O'Sullivan, O. & Cotter, P. (2017). Microbiota of raw milk and raw milk cheeses. In P. McSweeney, P. Fox, P. Cotter, & D. Everett (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (4th ed., Vol. 1, pp. 301-316). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00012-0>
284. Oguro, Y., Nishiwaki, T., Shinada, R., Kobayashi, K. & Kurahashi, A. (2017). Metabolite profile of koji amazake and its lactic acid fermentation product by *Lactobacillus sakei* UONUMA. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 124(2), 178-183. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2017.03.011>
285. Ortolani, M., Yamazi, A., Moraes, P., Viçosa, G. & Nero, L. (2010). Microbiological quality and safety of raw milk and soft cheese and detection of autochthonous lactic acid bacteria with antagonistic activity against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Spp., and *Staphylococcus aureus*. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(2), 175-180. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0390>
286. Osimani, A., Belleggia, L., Botta, C., Ferrocino, I., Milanović, V., Cardinali, F., Haouet, M., Garofalo, C., Mozzon, M., Foligni, R. & Aquilanti, L. (2023). Journey to the morpho-textural traits, microbiota, and volatilome of Ciauscolo PGI salami. *Food Bioscience*, 53, 102582. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102582>
287. Osimani, A., Garofalo, C., Aquilanti, L., Milanović, V. & Clementi, F. (2015). Unpasteurised commercial boza as a source of microbial diversity. *International Journal of Food Microbiology*, 194, 62-70. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.11.011>
288. Özdemir, N. (2023). Impact of *Lacticaseibacillus paracasei* subsp. *tolerans*, *Levilactobacillus parabrevis* and *Latilactobacillus curvatus* strains on texture, rheology

- and microstructure of dairy-based fermented product. *Journal of Engineering Sciences & Design*, 11(1), 33-40. <https://doi.org/10.21923/jesd.1098586>
289. Özogul, Y. & Özogul, F. (2019). Biogenic amines formation, toxicity, regulations in food. In B. Saad, & R. Tofalo (Eds.), *Biogenic Amines in Food: Analysis, Occurrence and Toxicity* (pp. 1-17). The Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781788015813-00001>
290. Ozturkoglu-Budak, S. & de Vries, R. (2017). Mold-ripened and raw milk cheeses: Production, risks, and benefits to human health. In R. Watson, R. Collier, & V. Preedy (Eds.), *Dairy in Human Health and Disease Across the Lifespan* (pp. 353-361). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809868-4.00027-3>
291. Pappa, E., Bontinis, T., Samelis, J. & Sotirakoglou, K. (2022). Assessment of the Microbiological Quality and Biochemical Parameters of Traditional Hard Xinotyri Cheese Made from Raw or Pasteurized Goat Milk. *Fermentation*, 8(1). <https://doi.org/10.3390/fermentation8010020>
292. Parente, E., Ricciardi, A. & Zotta, T. (2020). The microbiota of dairy milk: A review. *International Dairy Journal*, 107, 104714. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104714>
293. Park, Y. (2007). Rheological characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68(1-2), 73-87.
294. Park, Y. (2010). Goat milk: Composition and characteristics. In W. Pond, & N. Bell (Eds.), *Encyclopedia of animal science* (Vol. 2). Taylor and Francis
295. Park, Y., Juárez, M., Ramos, M., & Haenlein, G. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68(1-2), 88-113. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.013>
296. Parvez, S., Malik, K., Ah Kang, S. & Kim, H. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*, 100(6), 1171-1185. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02963.x>
297. Paskaš, S., Miočinović, J., Lopičić-Vasić, T., Mugoša, I., Pajić, M. & Becskei, Z. (2020). Consumer attitudes towards goat milk and goat milk products in Vojvodina. *Mljekarstvo*, 70, 171-183. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2020.0304>
298. Pavia, M., Guamis, B., Trujillo, A., Capellas, M. & Ferragut, V. (2000). Changes in microstructural, textural and colour characteristics during ripening of Manchego-type cheese salted by brine vacuum impregnation. *International Dairy Journal*, 9(2), 91-98. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00027-8](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00027-8)
299. Penland, M., Falentin, H., Parayre, S., Pawtowski, A., Maillard, M., Thierry, A. Mounier, J., Coton, M. & Deutsch, S. (2021). Linking Pélardon artisanal goat cheese microbial communities to aroma compounds during cheese-making and ripening. *International Journal of Food Microbiology*, 345, 109130. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109130>
300. Pérez, G., Cardell, E. & Zárate, V. (2003). Technological characterization of lactic acid bacteria from Tenerife cheese. *International Journal of Food Science and Technology*, 38(5), 537-546. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2003.00696.x>
301. Perin, L. & Nero, L. (2014). Antagonistic lactic acid bacteria isolated from goat milk and identification of a novel nisin variant *Lactococcus lactis*. *BMC Microbiology*, 14, 36. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-36>

302. Perin, L., Belviso, S., dal Bello, B., Nero, L. & Coccolin, L. (2017). Technological Properties and Biogenic Amines Production by Bacteriocinogenic Lactococci and Enterococci Strains Isolated from Raw Goat's Milk. *Journal of Food Protection*, 80(1), 151-157. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-267>
303. Perin, L., Moraes, P., Viçosa, G., Júnior, A. & Nero, L. (2012). Identification of bacteriocinogenic *Lactococcus* isolates from raw milk and cheese capable of producing nisin A and nisin Z. *International Dairy Journal*, 25(1), 46-51. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.12.010>
304. Pešić-Mikulec, D. & L., J. (2005). Microbiological study of fresh white cheese (A Serbian craft variety). *Applied Ecology and Environmental Research*, 4(1), 129-134.
305. Pessione, E. (2012). Lactic acid bacteria contribution to gut microbiota complexity: lights and shadows. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2, 86. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00086>
306. Petrovska, B., Petrovska, N., Gacovski, Z., Pacinovski, N., Zdraveski, I. & Dimeski, Z. (2017). Offer and demand of goat's milk products in Pelagonia region R. Macedonia. *Tradition and Modernity in Veterinary Medicine*, 2(1), 53-58.
307. Picon, A., Garde, S., Ávila, M. & Nuñez, M. (2016). Microbiota dynamics and lactic acid bacteria biodiversity in raw goat. *International Dairy Journal*, 58, 14-22. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.09.010>
308. Pisano, M., Deplano, M., Fadda, M. & Cosentino, S. (2019). Microbiota of Sardinian goat's milk and preliminary characterization of prevalent LAB species for starter or adjunct cultures development. *BioMed Research International*, 6131404. <https://doi.org/10.1155/2019/6131404>
309. Porchu, K. & Dzabirski, V. (2020). Review of the goat sector in the Republic of North Macedonia: Distribution, farm size, breed structure and milk production capacities. *Journal of Agricultural, Food and Environmental Sciences*, 74(2), 86-96. <https://doi.org/10.55302/JAFES20742085p>
310. Pothakos, V., Samapundo, S. & Devlieghere, F. (2012). Total mesophilic counts underestimate in many cases the contamination levels of psychrotrophic lactic acid bacteria (LAB) in chilled-stored food products at the end of their shelf-life. *Food Microbiology*, 32(2), 437-443. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.07.011>
311. Poveda, J. & Cabezas, L. (2006). Free fatty acid composition of regionally-produced Spanish goat cheese and relationship with sensory characteristics. *Food Chemistry*, 95(2), 307-311. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.045>
312. Prasev, I., Denkova-Kostova, R., Koleva, A., Denkova, Z., Goranov, B., Dobrev, I. & Kostov, G. (2025). Examination of some technological properties of lactic acid bacteria of the genera *Lactiplantibacillus* and *Levilactobacillus* isolated from spontaneously fermented sourdough. Part 1: Enzymatic profile. *BIO Web of Conferences*, 170, 02003. <https://doi.org/10.1051/bioconf/202517002003>
313. Psomas, E., Sakaridis, I., Boukouvala, E., Karatzia, M., Ekateriniadou, L. & Samouris, G. (2023). Indigenous Lactic Acid Bacteria Isolated from Raw Graviera Cheese and Evaluation of Their Most Important Technological Properties. *Foods*, 12(2), 370. <https://doi.org/10.3390/foods12020370>

314. Psoni, L., Kotzamanidis, C., Yiangou, M., Tzanetakis, N. & Litopoulou-Tzanetaki, E. (2007). Genotypic and phenotypic diversity of *Lactococcus lactis* isolates from Batzos, a Greek PDO raw goat milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 114(2).
315. Purevdorj, K., Buňková, L., Dlabajová, A., Čechová, E., Pachlová, V. & Buňka, F. (2021). The impact of cell-free supernatants of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* strains on the tyramine formation of *Lactobacillus* and *Lactiplantibacillus* strains isolated from cheese and beer. *Food Microbiology*, 99, 103813. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103813>
316. Quigley, L., O'Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T., Ross, R., Fitzgerald, G. & Cotter, P. (2013). The complex microbiota of raw milk. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 664-698. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12030>
317. Rabiei, S., Zahedi, M., Abtahi, M., Doustmohammadian, A., Dadkhah, M., Zoghi, T. & Hajigholam saryazdi, M. (2021). Consumption of milk and dairy products in Iranian population; barriers and facilitators. *Clinical Nutrition Open Science*, 38, 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.nutos.2021.05.002>
318. Rafique, N., Mamoona, T., Bashir, S., Hussain, I. & Hayat, I. (2023). Lactobacilli: Application in Food Industry. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.106856>
319. Ramakrishnan, V., Goveas, L., Narayan, B. & Halami, P. (2012). Comparison of Lipase Production by *Enterococcus faecium* MTCC 5695 and *Pediococcus acidilactici* MTCC 11361 Using Fish Waste as Substrate: Optimization of Culture Conditions by Response Surface Methodology. *International Scholarly Research Notices*, 980562. <https://doi.org/10.5402/2013/980562>
320. Rampanti, G., Belleggia, L., Cardinali, F., Milanović, V., Osimani, A., Garofalo, C., Ferrocino, I. & Aquilanti, L. (2023). Microbial Dynamics of a Specialty Italian Raw Ewe's Milk Cheese Curdled with Extracts from Spontaneous and Cultivated *Onopordum tauricum* Willd. *Microorganisms*, 11(1), 219. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010219>
321. Rampanti, G., Cardinali, F., Bande De León, C., Ferrocino, I., Franciosa, I., Milanović, V., Foligni, R., Tejada Portero, L., Garofalo, C., Osimani, A. & Aquilanti, L. (2024). *Onopordum platylepis* (Murb.) Murb. as a novel source of thistle rennet: First application to the manufacture of traditional Italian raw ewe's milk cheese. *Food Research International*, 192, 114838. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114838>
322. Ranadheera, C., Naumovski, N. & Ajlouni, S. (2018). Non-bovine milk products as emerging probiotic carriers: recent developments and innovations. *Current Opinion in Food Science*, 22, 109-114. <https://doi.org/10.1016/J.COFS.2018.02.010>
323. Ran-Ressler, R., Khailova, L., Arganbright, K., Adkins-Rieck, C., Jouni, Z., Koren, O., Ley, R., Brenna, J. & Dvorak, B. (2011). Branched chain fatty acids reduce the incidence of necrotizing enterocolitis and alter gastrointestinal microbial ecology in a neonatal rat model. *PLOS One*, 6(12), e29032.
324. Raoult, D. (2009). Probiotics and obesity: a link? *Nature Reviews Microbiology*, 7(9), 616. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2209>
325. Raynal-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Guillet, I. & Chilliard, Y. (2008). Composition of goat and sheep milk products: an update. *Small Ruminant Research*, 79(1), 57-72.

326. Rehman, R., Wang, Y., Wang, J. & Geng, W. (2018). Physicochemical analysis of Mozzarella cheese produced and developed by the novel EPS-producing strain *Lactobacillus kefiranofaciens* ZW3. *International Journal of Dairy Technology*, 71, 90-98. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12445>
327. Reuben, R., Langer, D., Eisenhauer, N. & Jurburg, S. (2023). Universal drivers of cheese microbiomes. *iScience*, 26(1), 105744. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.105744>
328. Rezaei, Z., Nickfar, F., Salari, A., Yousefi, M., Khodaparast, M. & Shamloo, E. (2023). Feasibility of biofilm production capacity by *Levilactobacillus brevis* isolated from motal cheese and evaluation of biofilm resistance produced in vitro and in yogurt. *Arabian Journal of Chemistry*, 16, 104702. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.104702>
329. Rodríguez, J., González-Guerra, A., Vázquez, L., Fernández-López, R., Flórez, A., de la Cruz, F. & Mayo, B. (2022). Isolation and phenotypic and genomic characterization of *Tetragenococcus* spp. from two Spanish traditional blue-veined cheeses made of raw milk. *International Journal of Food Microbiology*, 371, 109670. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109670>
330. Rossi, F., Marzotto, M., Cremonese, S., Rizzotti, L. & Torriani, S. (2013). Diversity of *Streptococcus thermophilus* in bacteriocin production; inhibitory spectrum and occurrence of thermophilin genes. *Food microbiology*, 35(1), 27-33. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.02.006>
331. Roth, E., Miescher Schwenninger, S., Eugster-Meier, E. & Lacroix, C. (2011). Facultative anaerobic halophilic and alkaliphilic bacteria isolated from a natural smear ecosystem inhibit *Listeria* growth in early ripening stages. *International Journal of Food Microbiology*, 147(1), 26-32. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.032>
332. Ruas-Madiedo, P. & de los Reyes-Gavilán, C. (2005). Invited review: methods for the screening, isolation, and characterization of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science*, 88(3), 843-856. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72750-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72750-8)
333. Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J. & Zoon, P. (2002). An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 12(2-3), 163-171. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00160-1](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00160-1)
334. Ruas-Madiedo, P., Salazar, N. & de los Reyes-Gavilán, C. (2010). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria in food and probiotic applications. In O. Holst, P. Brennan, & M. Von Itzstein (Eds.), *Microbial Glycobiology* (pp. 887-902). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374546-0.00045-6>
335. Ruppitsch, W. (2020). Draft Genome Sequences of Five *Enterococcus faecium* Isolates from Traditional Montenegrin Brine Cheese. *Microbiology Resource Announcements*, 9(19). <https://doi.org/10.1128/mra.00353-20>
336. Rüstemoğlu, M., Erkan, M., Cengiz, G. & Hajyzadeh, M. (2023). Bacterial metagenome profiling of hand-made herby cheese samples utilizing high-throughput sequencing to detect geographical indication and marketing potential. *Heliyon*, 9(2), e13334. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13334>
337. Ruta, S., Belvedere, G., Licitra, G., Nero, L., Caggia, C., Randazzo, C. & Caccamo, M. (2025). Recent insights on the multifaceted roles of wooden tools in cheese-making: A review of their impacts on safety and final traits of traditional cheeses. *International*

- Journal of Food Microbiology*, 435, 111179.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodmicro.2025.111179>
338. Şahingil, D., Gökçe, Y. & Hayaloğlu, A. (2026). Effect of non-starter lactobacilli used as adjunct-culture in model cheese production on volatile compounds and free amino acid contents. *Journal of Future Foods*, 6(4), 589-603.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2025.05.001>
339. Salimi, F. & Farrokh, P. (2023). Recent advances in the biological activities of microbial exopolysaccharides. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39, 213.  
<https://doi.org/10.1007/s11274-023-03660-x>
340. Salvetti, E., Torriani, S. & Felis, G. (2012). The Genus *Lactobacillus*: A Taxonomic Update. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 4(4), 217-226.  
<https://doi.org/10.1007/s12602-012-9117-8>
341. Samanta, I. & Bandyopadhyay, S. (2020). Chapter 16 – *Staphylococcus*. In I. Samanta, & S. Bandyopadhyay (Eds.), *Antimicrobial Resistance in Agriculture* (pp. 195-215). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815770-1.00016-X>
342. Samedí, L. & Charles, A. (2019). Isolation and characterization of potential probiotic Lactobacilli from leaves of food plants for possible additives in pellet feeding. *Annals of Agricultural Sciences*, 64(1), 55-62. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2019.05.004>
343. Sánchez-Gamboa, C., Hicks-Pérez, L., Gutiérrez-Méndez, N., Heredia, N., García, S. & Nevárez-Moorillón, G. V. (2018). Microbiological Changes during Ripening of Chihuahua Cheese Manufactured with Raw Milk and Its Seasonal Variations. *Foods*, 7(9), 153. <https://doi.org/10.3390/foods7090153>
344. Şanlı, T., Gursel, A., Şanlı, E., Acar, E. & Benli, M. (2013). The effect of using an exopolysaccharide-producing culture on the physicochemical properties of low-fat and reduced-fat Kasar cheeses. *International Journal of Dairy Technology*, 66(4), 535-542.  
<https://doi.org/10.1111/1471-0307.12071>
345. Santapaola, J., Maldonado, S. & Medina, J. (2013). NaCl diffusion kinetics in dry salting of goat cheese. *Journal of Food Engineering*, 118(2), 172-177.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.03.028>
346. Sarantinopoulos, P., Andrighetto, C., Georgalaki, M., Rea, M., Lombardi, A., Cogan, T., Kalantzopoulos, G. & Tsakalidou, E. (2001). Biochemical properties of enterococci relevant to their technological performance. *International Dairy Journal*, 11(8), 621-647.  
[https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00087-5](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00087-5)
347. Scatamburlo, T., Yamazi, A., Cavicchioli, V., Pieri, F. & Nero, L. (2015). Spoilage potential of *Pseudomonas* species isolated from goat milk. *Journal of Dairy Science*, 98(2), 759-764. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8747>
348. Serrapica, F., Masucci, F., Di Francia, A., Napolitano, F., Braghieri, A., Esposito, G. & Romano, R. (2020). Seasonal Variation of Chemical Composition, Fatty Acid Profile, and Sensory Properties of a Mountain Pecorino Cheese. *Foods*, 9, 1091.  
<https://doi.org/10.3390/foods9081091>
349. Settanni, L. & Moschetti, G. (2010). Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food Microbiology*, 27(6), 691-697.  
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.05.023>

350. Sezen Demirci, F. (2012). *Beyaz peynirde aroma profilinin karakterizasyonu (characterization of aroma profile in white cheese)*. Doctoral dissertation, Ankara University, Graduate School of Natural and Applied Sciences. <https://dspace.ankara.edu.tr/items/6caafdc1-1786-4fe8-8fce-fe761ee641dd>
351. Shalaby, M., Reboud, J., Forde, T., Zadoks, R. & Busin, V. (2024). Distribution and prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in raw ruminants' milk: A systematic review. *Food Microbiology*, 118, 104405. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104405>
352. Sharma, P., Sharma, A. & Lee, H. (2024). Antioxidant potential of exopolysaccharides from lactic acid bacteria: A comprehensive review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 281(2), 135536. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.135536>
353. Shi, Y., Pu, D., Zhou, X. & Zhang, Y. (2022). Recent Progress in the Study of Taste Characteristics and the Nutrition and Health Properties of Organic Acids in Foods. *Foods*, 11(21), 3408. <https://doi.org/10.3390/foods11213408>
354. Shukri, M., Alias, A., Murad, M., Yen, K. & Cheng, L. (2022). A review of natural cheese and imitation cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46, e16112. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16112>
355. Sieuwerts, S., Bron, P. & Smid, E. (2018). Mutually stimulating interactions between lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* in sourdough fermentation. *LWT*, 90, 201-206. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.022>
356. Silva, B., Fernandes, N., Carvalho, L., Faria, A., Teixeira, J., Rodrigues, C., Gonzales-Barrón, Ú. & Cadavez, V. (2023b). Lactic acid bacteria from artisanal raw goat milk cheeses: technological properties and antimicrobial potential. *Italian Journal of Food Safety*, 12(4), 11559. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2023.11559>
357. Silva, B., Teixeira, J., Cadavez, V. & Gonzales-Barron, U. (2023a). Mild Heat Treatment and Biopreservatives for Artisanal Raw Milk Cheeses: Reducing Microbial Spoilage and Extending Shelf-Life through Thermisation, Plant Extracts and Lactic Acid Bacteria. *Foods*, 12, 3206. <https://doi.org/10.3390/foods12173206>
358. Simons, A., Alhanout, K. & Duval, R. (2020). Bacteriocins, Antimicrobial Peptides from Bacterial Origin: Overview of Their Biology and Their Impact against Multidrug-Resistant Bacteria. *Microorganisms*, 8(5), 639. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050639>
359. Smid, E., Erkus, O., Spus, M., Wolkers-Rooijackers, J., Alexeeva, S. & Kleerebezem, M. (2014). Functional implications of the microbial community structure of undefined mesophilic starter cultures. *11th International Symposium on Lactic Acid Bacteria*, 13. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-S1-S2>
360. Soltani, M., Say, D. & Guzeler, N. (2024). Changes in texture profile and mineral content of ultrafiltered white cheese produced using different salt concentrations. *Mljekarstvo*, 74(1), 64-74. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2024.0105>
361. Sørensen, H., Rochfort, K., Maye, S., MacLeod, G., Brabazon, D., Loscher, C. & Freeland, B. (2022). Exopolysaccharides of Lactic Acid Bacteria: Production, Purification and Health Benefits towards Functional Food. *Nutrients*, 14, 2938. <https://doi.org/10.3390/nu14142938>

362. Sousa, M., Ardö, Y. & McSweeney, P. (2001). Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 327-345. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00062-0](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00062-0)
363. Staley, C., Dunny, G. & Sadowsky, M. (2014). Environmental and animal-associated enterococci. In S. Sariaslani, & G. Gadd (Eds.), *Advances in Applied Microbiology* (Vol. 87, pp. 147-186). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800261-2.00004-9>
364. Steele, J., Broadbent, J. & Kok, J. (2013). Perspectives on the contribution of lactic acid bacteria to cheese flavor development. *Current Opinion in Biotechnology*, 24(2), 135-141. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.12.001>
365. Stevens, K., Sheldon, B., Klapes, N. & Klaenhammer, T. (1991). Nisin treatment for inactivation of *Salmonella* species and other gram-negative bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(12), 3613-3615. <https://doi.org/10.1128/aem.57.12.3613-3615.1991>
366. Sulejmani, E. & Hayaloglu, A. (2018). Characterisation of Macedonian white-brined cheese: Effect of raw or heat-treated caprine milk. *International Journal of Dairy Technology*, 71(2). <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12486>
367. Sun, Y., Wang, C., Sun, X. & Guo, M. (2020). Proteomic Analysis of Whey Proteins in the Colostrum and Mature Milk of Xinong Saanen Goats. *Journal of Dairy Science*, 103, 1164-1174.
368. Surber, G., Schäper, C., Wefers, D., Rohm, H. & Jaros, D. (2021). Exopolysaccharides from *Lactococcus lactis* affect manufacture, texture and sensory properties of concentrated acid milk gel suspensions (fresh cheese). *International Dairy Journal*, 112, 104854. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104854>
369. Suzuki, T., Matsutani, M., Matsuyama, M., Unno, R., Matsushita, H., Sugiyama, M., Yamasato, K., Koizumi, Y. & Ishikawa, M. (2021). Growth and metabolic properties of halophilic and alkaliphilic lactic acid bacterial strains of *Marinilactibacillus psychrotolerans* isolated from surface-ripened soft cheese. *International Dairy Journal*, 112, 104840. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104840>
370. Suzzi, G., Caruso, M., Gardini, F., Lombardi, A., Vannini, L., Guerzoni, M., Andrighetto, C. & Lanorte, M. (2000). A survey of the enterococci isolated from an artisanal Italian goat's cheese (semicotto caprino). *Journal of Applied Microbiology*, 89(2), 267-274. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01120.x>
371. Švec, P. & Franz, C. (2014). The genus *Enterococcus*. In W. Holzapfel, & B. Wood (Eds.), *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy*. John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9781118655252.ch15>
372. Švec, P., Vancanneyt, M., Koort, J., Naser, S., Hoste, B., Vihavainen, E., Vandamme, P., Swings, J. & Björkroth, J. (2005). *Enterococcus devriesei* sp. nov., associated with animal sources. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 55(6), 2479-2484. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63851-0>
373. Tabanelli, G. (2020). Biogenic Amines and Food Quality: Emerging Challenges and Public Health Concerns. *Foods*, 9(7), 859. <https://doi.org/10.3390/foods9070859>
374. Tabanelli, G., Barbieri, F., Baños, A., Madero, J. M., Daza, M. V., Cortimiglia, C., Milani, G., Bassi, D., Gardini, F. & Montanari, C. (2024). *Companilactobacillus alimentarius*: An extensive characterization of strains isolated from spontaneous fermented

- sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 410, 110489. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110489>
375. Tadesse, B., Gu, L., Solem, C., Mijakovic, I. & Jers, C. (2024). The Probiotic *Enterococcus Lactis* SF68 as a Potential Food Fermentation Microorganism for Safe Food Production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(32), 18089-18099. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c03644>
376. Tadjine, D., Boudalia, S., Bousbia, A., Gueroui, Y., Symeon, G., Mebirouk Boudechiche, L., Tadjine, A. & Chemmam, M. (2020). Milk heat treatment affects microbial characteristics of cows' and goats' "Jben" traditional fresh cheeses. *Food Science and Technology (Campinas)*. <https://doi.org/10.1590/fst.00620>
377. Tanasupawat, S., Phoottosavako, M. & Keeratipibul, S. (2015). Characterization and lipolytic activity of lactic acid bacteria isolated from Thai fermented meat. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(03), 006-012. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2015.50302>
378. Tapia, S., Moreno-Ruiz, A., Tres, A., Moreno-Yerro, N., Arrubla, P., Gastón-Lorente, M., Luz Mohedano, M., Virto, R. & Fratebianchi, D. (2025). Butter aroma compounds in plant-based milk alternatives through fermentation: screening of potential starter cultures and enhanced production in oat milk with *Lactococcus cremoris*. *LWT*, 223, 117754. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.117754>
379. Teixeira, P. (2014). *Lactobacillus*, *Lactobacillus brevis*. In C. Batt, & M. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (2nd ed., pp. 418-424). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00178-6>
380. Ter, Z., Chang, L., Babji, A., Zaini, N., Fazry, S., Sarbini, S., Peterbauer, C. & Lim, S. (2024). A review on proteolytic fermentation of dietary protein using lactic acid bacteria for the development of novel proteolytically fermented foods. *International Journal of Food Science and Technology*, 59(3), 1213-1236. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16888>
381. Terpou, A., Papadaki, A., Lappa, I., Kachrimanidou, V., Bosnea, L. & Kopsahelis, N. (2019). Probiotics in Food Systems: Significance and Emerging Strategies Towards Improved Viability and Delivery of Enhanced Beneficial Value. *Nutrients*, 11(7), 1591. <https://doi.org/10.3390/nu11071591>
382. Terzić-Vidojević, A., Veljović, K., Tolinački, M., Živković, M., Lukić, J., Lozo, J., Fira, Đ., Jovčić, B., Strahinić, I., Begović, J., Popović, N., Miljković, M., Kojić, M., Topisirović, L. & Golić, N. (2020). Diversity of non-starter lactic acid bacteria in autochthonous dairy products from Western Balkan Countries - Technological and probiotic properties. *Food Research International*, 136, 109494. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109494>
383. Teuber, M. (1995). The genus *Lactococcus*. In B. Wood, & W. Holzapfel (Eds.), *The Genera of Lactic Acid Bacteria* (pp. 173-234). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5817-0\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5817-0_6)
384. Thierry, A., Collins, Y., Abeijón Mukdsi, M., McSweeney, P., Wilkinson, M. & Spinnler, H. (2017). Lipolysis and metabolism of fatty acids in cheese. In P. McSweeney, P. Fox, P. Cotter, & D. Everett (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (4th ed., Vol. 1, pp. 423-444). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00017-X>

385. Thierry, A., Maillard, M., Richoux, R. & Lortal, S. (2006). Ethyl ester formation is enhanced by ethanol addition in mini Swiss cheese with and without added propionibacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18), 6819-6824. <https://doi.org/10.1021/jf060673m>
386. Todorov, S., Dioso, C., Liong, M.-T., Nero, L., Khosravi-Darani, K. & Ivanova, I. (2023). Beneficial features of pediococcus: from starter cultures and inhibitory activities to probiotic benefits. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(4). <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03419-w>
387. Toit, M., Huch, M., Cho, G. & Franz, C. (2014). The genus *Streptococcus*. In W. Holzappel, & B. Wood (Eds.), *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy* (pp. 457-505). John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9781118655252.ch28>
388. Tomasino, E., Turbes, G., Lim, J., WaiteCusic, J. & Meunier Goddik, L. (2018). Flavor composition of raw and pasteurized milk Cheddar cheeses made from milk sourced from different producers. *Advances in Dairy Research*, 6(2). <https://doi.org/10.4172/2329-888X.1000209>
389. Torkar, K. & Vengušt, A. (2008). The presence of yeasts, moulds and aflatoxin M1 in raw milk and cheese in Slovenia. *Food Control*, 19(6), 570-577. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.06.008>
390. Torriani, S., Felis, G. & Fracchetti, F. (2011). Selection criteria and tools for malolactic starters development: an update. *Annals of Microbiology*, 61, 33-39. <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0072-x>
391. Tulini, F., Hymery, N., Haertlé, T., Le Blay, G. & De Martinis, E. (2016). Screening for antimicrobial and proteolytic activities of lactic acid bacteria isolated from cow, buffalo and goat milk and cheeses marketed in the southeast region of Brazil. *The Journal of Dairy Research*, 83(1), 115-124. <https://doi.org/10.1017/S0022029915000606>
392. Türkmen, D. & Güler, Z. (2022). Influence of chymosin type and brine concentration on chemical composition, texture, microstructural and colour properties of Turkish white cheeses. *International Dairy Journal*, 133, 105408. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105408>
393. Tütenk, S., Dellal, G., Pehlivan, E. & Akşit, Ö. (2022). Factors Affecting Consumer Perception of Goat Milk and Dairy Products in Ankara Province. *Livestock Studies*, 62(1), 37-46. <http://doi.org/10.46897/livestockstudies.1122574>
394. Uppada, S., Akula, M., Bhattacharya, A. & Dutta, J. (2017). Immobilized lipase from *Lactobacillus plantarum* in meat degradation and synthesis of flavor esters. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 15(2), 331-334. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.07.008>
395. Vafopoulou-Mastrojiannaki, A., Litopoulou-Tzanetaki, E. & Tzanetakis, N. (1994). Proteinase, Peptidase and Esterase Activity of Crude Cell-free Extracts of *Pediococcus pentosaceus* Isolated from Cheese. *LWT - Food Science and Technology*, 27(4), 342-346. <https://doi.org/10.1006/fstl.1994.1070>
396. Vallejo, M., Sosa, F., Parada, R., Aguirre, L. & Marguet, E. (2018). Isolation of bacteriocinogenic *Enterococcus mundtii* strain from *Hemiodema spectabilis* (sea cucumber). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(4), 1481-1492.

397. Vargas-Bello-Pérez, E., Tajonar, K., Foggi, G., Mele, M., Simitzis, P., Mavrommatis, A., Tsiplakou, E., Habib, M., Gonzalez-Ronquillo, M. & Toro-Mujica, P. (2022). Consumer attitudes toward dairy products from sheep and goats: A cross-continental perspective. *Journal of Dairy Science*, 105(11), 8718-8733. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-21894>
398. Vera Pingitore, E., Todorov, S., Sesma, F. & Gombossy de Melo Franco, B. (2012). Application of bacteriocinogenic *Enterococcus mundtii* CRL35 and *Enterococcus faecium* ST88Ch in the control of *Listeria monocytogenes* in fresh Minas cheese. *Food Microbiology*, 32(1), 38-47. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.04.005>
399. Verma, S. & Kashyap, S. (2024). Antibiotic Battleground: *Enterococcus* and Drug Resistance. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.114934>
400. Vermote, L., Verce, M., De Vuyst, L. & Weckx, S. (2018). Amplicon and shotgun metagenomic sequencing indicates that microbial ecosystems present in cheese brines reflect environmental inoculation during the cheese production process. *International Dairy Journal*, 87, 44-53. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.07.010>
401. Vernozy-Rozand, C., Mazuy-Cruchaudet, C., Bavai, C., Montet, M., Bonin, V., Dernburg, A. & Richard, Y. (2005). Growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture and ripening of raw goat milk lactic cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 105(1), 83-88. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.05.005>
402. Walling, E., Gindreau, E. & Lonvaud-Funel, A. (2005). A putative glucan synthase gene dps detected in exopolysaccharide-producing *Pediococcus damnosus* and *Oenococcus oeni* strains isolated from wine and cider. *International Journal of Food Microbiology*, 98(1), 53-62. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.016>
403. Walstra, P., Wouters, J. & Geurts, T. (2005). *Dairy Science and Technology* (2nd ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420028010>
404. Wang, J., Zhang, D., Li, J., Zou, T., Wen, R., Hou, Y. Song, H., Li, H., Ma, H. & Shi, J. (2025). Aroma profiling of long shelf-life yoghurt from milk with varying acidity: Insights from sensory evaluation and instrumental analysis. *Food Chemistry: X*, 25, 102215. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2025.102215>
405. Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y. & Geng, W. (2021). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 612285. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
406. Wemmenhove, E., Wells-Bennik, M., Stara, A., van Hooijdonk, A. & Zwietering, M. (2016). How NaCl and water content determine water activity during ripening of Gouda cheese, and the predicted effect on inhibition of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Dairy Science*, 99(7), 5192-5201.
407. Werning, M., Ibarburu, I., Dueñas, M., Irastorza, A., Navas, J. & López, P. (2006). *Pediococcus parvulus* gtf Gene Encoding the GTF Glycosyltransferase and Its Application for Specific PCR Detection of  $\beta$ -d-Glucan-Producing Bacteria in Foods and Beverages. *Journal of Food Protection*, 69(1), 161-169. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.1.161>
408. WHO/FAO/UNU. (2007). *Report of a Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation on Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition*. <https://iris.who.int/handle/10665/4341>

409. Winkelströter, L., Tulini, F. & De Martinis, E. (2015). Identification of the bacteriocin produced by cheese isolate *Lactobacillus paraplantarum* FT259 and its potential influence on *Listeria monocytogenes* biofilm formation. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 586-592. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.014>
410. Wójcik, W., Łukasiewicz, M. & Puppel, K. (2021). Biogenic amines: formation, action and toxicity - a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(7), 2634-2640. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10928>
411. Wu, G. (2013). Functional amino acids in nutrition and health. *Amino acids*, 45(3), 407-411.
412. Wu, T., Liu, Q., Zhang, D., Zhou, Y., Ye, K., Cao, W., Zhang, Y., Sun, Q. & Peng, D. (2025). Comparison of different types of protein cross-linking enzymes on the yield and quality of goat milk Halloumi type cheese. *LWT*, 227, 117993. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.117993>
413. Yadav, A., Singh, J. & Yadav, S. (2016). Composition, nutritional and therapeutic values of goat milk: A review. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 35, 96-102.
414. Yang, Z., Liu, S., Chen, X., Chen, H., Huang, M. & Zheng, J. (2000). Induction of apoptotic cell death and in vivo growth inhibition of human cancer cells by a saturated branched-chain fatty acid, 13-methyltetradecanoic acid. *Cancer Research*, 60, 505-509.
415. Yavuz, M. Kasavi, C. & Toksoy Öner, E. (2021). Developments in effective use of volatile organic compound analysis to assess flavour formation during cheese ripening. *Journal of Dairy Research*, 88(4), 461-467. <https://doi.org/10.1017/S0022029921000790>
416. Yu, P., Guan, C., Yuan, Y., Liu, Y., Wang, X., Yang, R., Zhang, C., Chen, D., Huang, Y. & Gu, R. (2025). Characterization of *Lactococcus lactis* grx602: A novel lipase-producing probiotic strain for nutritional and sensory enhancement of sour cream. *Food Bioscience*, 74, 107918. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.107918>
417. Yu, Z., Peng, C., Kwok, L. & Zhang, H. (2021). The Bacterial Diversity of Spontaneously Fermented Dairy Products Collected in Northeast Asia. *Foods*, 10, 2321. <https://doi.org/10.3390/foods10102321>
418. Zakirul Islam, M., Elias Uddin, M., Tanvir Rahman, M., Ashiqul Islam, M. & Harunur-Rashid, M. (2021). Isolation and characterization of dominant lactic acid bacteria from raw goat milk: Assessment of probiotic potential and technological properties. *Small Ruminant Research*, 205, 106532. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106532>
419. Zapašnik, A., Sokołowska, B. & Bryła, M. (2022). Role of Lactic Acid Bacteria in Food Preservation and Safety. *Foods*, 11(9), 1283. <https://doi.org/10.3390/foods11091283>
420. Zhai, H., Yang, X., Li, L., Xia, G., Cen, J., Huang, H. & Hao, S. (2012). Biogenic amines in commercial fish and fish products sold in southern China. *Food Control*, 25(1), 303-308. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.057>
421. Zhang, F., Wang, Z., Lei, F., Wang, B., Jiang, S., Peng, Q., Zhang, J. & Shao, Y. (2017). Bacterial diversity in goat milk from the Guanzhong area of China. *Journal of Dairy Science*, 100(10), 7812-7824. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13244>
422. Zhang, L., Zhang, Z., Huang, J., Zhou, R. & Wu, C. (2024). Co-culture of *Tetragenococcus halophilus* and *Zygosaccharomyces rouxii* to improve microbiota and metabolites in secondary fortified fermented soy sauce. *Food Bioscience*, 61, 104850. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104850>

423. Zhao, C., Schieber, A. & Gänzle, M. (2016). Formation of taste-active amino acids, amino acid derivatives and peptides in food fermentations - A review. *Food Research International*, 89(1), 39-47. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.042>
424. Zhao, Y., Zheng, Y., Zhou, T., Liu, Y., Ibrahim, S., Gao, Z., Ma, X. & Wang, W. (2025a). Deciphering cheese taste formation: Core microorganisms, enzymatic catalysis, and metabolic mechanisms. *Trends in Food Science & Technology*, 162, 105089. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2025.105089>
425. Zhao, Z., Zhang, Y., Simpson, D. & Gänzle, M. (2025b). A phylogenetic perspective on the performance of *Lactococcus lactis* as starter culture in milk and plant milks. *Food Research International*, 221(4), 117562. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2025.117562>
426. Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C., Harris, H., Mattarelli, P., O'Toole, P., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G., Gänzle, M. & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782-2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>
427. Zheng, Y., Liu, Z. & Mo, B. (2016). Texture Profile Analysis of Sliced Cheese in relation to Chemical Composition and Storage Temperature. *Journal of Chemistry*, 8690380. <https://doi.org/10.1155/2016/8690380>
428. Zhi, T., Li, X., Sadiq, F., Mao, K., Gao, J., Mi, S., Liu, X., Deng, W., Chitrakar, B. & Sang, Y. (2022). Novel antioxidant peptides from protein hydrolysates of scallop (*Argopecten irradians*) mantle using enzymatic and microbial methods: Preparation, purification, identification and characterization. *LWT*, 164, 113636. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113636>
429. Zimmerman, T., Siddiqui, S., Bischoff, W. & Ibrahim, S. (2021). Tackling Airborne Virus Threats in the Food Industry: A Proactive Approach . *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(8), 4335. <https://doi.org/10.3390/ijerph18084335>
430. Zine-eddine, Y., Zinelabidine, L., Kzaiber, F., Oussama, A. & Boutoial, A. (2021). Analysis of acceptance and factors affecting the consumption of goat's milk in Morocco. *Small Ruminant Research*, 197, 106338. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106338>

## ПРИЛОЗИ

### Прашалник за ставови кон козјото млеко и кон козјите млечни производи

#### I. Социодемографски прашања

1. Местото каде живеете?
  - Скопски Регион
  - Источен Регион
  - Југоисточен Регион
  - Североисточен Регион
  - Пелагониски Регион
  - Вардарски Регион
  - Југозападен Регион
  - Полошки Регион
  - Друго:
2. Вашата возраст:
  - 18-29
  - 30-39
  - 40-49
  - 50-59
  - 60+
3. Пол:
  - Женски
  - Машки
4. Кое е највисокото ниво на образование што сте го завршиле?
  - Основно училиште
  - Средно училиште
  - Прв циклус (Bachelor)
  - Магистратура
  - Докторат
5. Каква е вашата работна состојба?
  - Вработен (универзитет, прехранбена индустрија, центар за нутриционизам, земјоделство)
  - Вработен (друга дисциплина)
  - Студент (прехранбена технологија, нутриционизам, земјоделство)
  - Студент (друга дисциплина)
  - Невработен
6. Каде живеете?
  - Урбано место (>100 000 жители)
  - Град (50 001-100 000 жители)
  - Град (10 000-50 000 жители)
  - Село (<10 000 жители)
7. Дали имате познавања од областите: наука на храна, прехранбена технологија, нутриционизам, сточарство или други слични области?

- Да
- Не

## II. Потрошувачка

1. Дали консумирате козји млечни производи?
  - Да
  - Не

Следниве прашања ги пополнуваат лицата кои дадоа позитивен одговор (да) во однос на консумацијата на овие производи.

1. Какви видови козји млечни производи консумирате/користите?
  - Млеко
  - Свежо сирење
  - Зреено сирење (Бело саламурено)
  - Јогурт и кисело млеко
  - Урда (ricotta)
  - Путер
  - Сладолед
  - Козметика (сапуни и креми)
2. Колку често консумирате козји млечни производи?
  - Секој ден
  - 3-6 пати неделно
  - 1-2 пати неделно
  - 2-3 пати месечно
  - 1-2 пати годишно
  - Кога е потребно (на пример, поради болест)
3. Каде купувате производи од козјо млеко?
  - Супермаркет
  - Локален пазар
  - Локална фарма
  - Online добавувачи
4. Дали сте заинтересирани за хранливите материи на козјите млечни производи?
  - Сум заинтересиран
  - Не сум заинтересиран

Следните прашања ги пополнуваат лицата кои дадоа негативен одговор (не) во однос на консумацијата на овие производи.

1. Која е причината зошто не консумирате производи од козјо млеко? Изберете до 5 причини.
  - Не ми се допаѓаат
  - Не ги знам
  - Нетолеранција на лактоза
  - Алергија

- Здравствена загриженост
- Етичка загриженост/грижа за благосостојба на животните
- Загриженост за одржливост/ефект на стаклена градина
- Загриженост за додадени хормони или антибиотици
- Пренесување на болести од животни на луѓе
- Ограничена достапност на националниот пазар
- Цена
- Силен вкус и мирис

### III. Општа перцепција

1. Според ваше мислење, кои од следниве концепти ги поврзувате со козјите млечни производи? Изберете до 3.
  - Здрави
  - Нездрави
  - Вкусни
  - Традиционални
  - Силен вкус и мирис
  - Корисни за готвење
  - Скапи
  - Семејна фарма (мали фарми)
2. Кои од следниве карактеристики ги поврзувате со козјите млечни производи? Изберете до 3.
  - Велнес и фитнес
  - Медитеранската диета
  - Гурмански производи
  - Вкусни
  - Локално земјоделство
  - Фер трговија
  - Социјален статус
3. Од кој извор ги добивате информациите за производите од козјо млеко? Изберете до 3.
  - Телевизија
  - Социјални медиуми или мрежи
  - Весници
  - Списанија или книги
  - Образование (на пр., училиште или универзитет)
  - Фамилија
  - Пријатели или колеги
4. За која од следниве алтернативи би платиле повеќе за производи од козјо млеко? Изберете до 3.
  - Еколошки производ (eco-friendly)
  - Одржлив производ
  - Производ кој е пријателски настроен кон благосостојбата на животните
  - Фер трговија

- Функционален производ (нутритивни придобивки)
  - Локален производ
  - Органски производ
  - Производ без лекови (т.е. хормони и антибиотици)
5. Според вас, колку се здрави козјите млечни производи?
- Многу здрави
  - Здрави
  - Ниту здрави, ниту нездрави
  - Нездрави
  - Многу нездрави
6. Зошто мислите дека козјите млечни производи се здрави? Изберете до 3.
- Нутритивни придобивки
  - Хипоалергенски
  - Природни производи
  - Лесно варење
  - Помалку обработени
  - Потрадиционални
  - Лек
7. Од кој вид млеко преферирате сирење?
- Кравјо млеко
  - Овчо млеко
  - Козјо млеко