

**СКЛАД МІКРОФЛОРИ КЕФІРНИХ ГРИБКІВ,
ГРИБКОВОЇ КЕФІРНОЇ ЗАКВАСКИ ТА КЕФІРУ**

Шульга Н.М., к.т.н., Боднарчук О.В., к.т.н., Кігель Н.Ф., д.т.н.

Технологічний інститут молока та м'яса УААН

Досліджено якісний і кількісний склад мікрофлори кефірних грибків, грибової кефірної закваски та кефіру, встановлено кількісне співвідношення між молочнокислими мікроорганізмами, дріжджами та оцтовокислими бактеріями

Ключові слова: кефірні грибки, грибкова кефірна закваска, кефір, молочнокислі бактерії, оцтовокислі бактерії, дріжджі.

Кефір – продукт молочнокислого та спиртового бродіння, який характеризується тонізуючим щипким кисломолочним смаком, в міру густою консистенцією, що злегка піниться. Маючи багатовікову історію, нині кефір залишається одним з найпопулярніших кисломолочних напоїв на території Східної Європи та, зокрема, входить до переліку традиційних молочних продуктів України. Унікальність цього напою обумовлена застосуванням кефірних грибків – живого природного сполучення мікроорганізмів і дріжджів, полісахаридів, скоагульованих білків і продуктів метаболізму бактерій [1].

Поживна цінність кефіру значною мірою залежить від таких факторів, як склад сировини, умови ферментування тощо. Цей продукт характеризується вмістом молочної кислоти на рівні 0,8-1,5%, етанолу 0,05-2,00%, вуглекислого газу 0,08-0,2%, а також містить органічні кислоти, інші смако-ароматичні сполуки (ацетоїн, діацетил, ацетальдегід, бутандіол, складні ефіри) [2]. Істотний рівень протеолітичної активності лактобацил призводить до накопичення у продукті вільних амінокислот, в тому числі й незамінних, а в результаті життєдіяльності дріжджів кефір збагачується вітамінами В₁, В₂,

К, фолієвою кислотою, біотином. Добре відомі функціональні властивості кефіру: антагоністична активність щодо широкого кола грампозитивних і грамнегативних бактерій, сприяння травленню, посилення імунітету, протианемічна дія. Накопичення дріжджами та молочнокислими бактеріями спирту та молочної кислоти під час спільного культивування перешкоджає розвитку сторонніх мікроорганізмів. Сполучення цих двох та інших продуктів бродіння значно підсилює функціональні властивості кисломолочного напою, а утворення деякими мікроорганізмами бактеріоцинів, специфічних біологічно активних полісахаридів дає змогу віднести кефір до комплексних пробіотиків [3].

Співвідношення між мікроорганізмами кефірних грибків є динамічним та істотно залежить від багатьох факторів, як-то: їхнє походження, склад молока та спосіб його оброблення, умови культивування та зберігання. Саме тому вивчення цього природного симбіозу є актуальним питанням.

Метою роботи було дослідження складу мікрофлори кефірних грибків, грибкової кефірної закваски та властивостей кефіру, виготовленого з їхнім застосуванням.

Матеріали та методи. До роботи було залучено 4 види кефірних грибків з різних регіонів України та Росії. Кефірні грибки підтримували за температури $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ у пастеризованому знежиреному молоці, промиваючи через день пастеризованою водою. Відновлене знежирене молоко пастеризували за температури $(95 \pm 2)^\circ\text{C}$ упродовж 0,5 години. Культивування кефірних грибків здійснювали за температури $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ упродовж 24 годин за співвідношення «грибки : молоко» 1:30. Після відокремлення кефірних грибків одержували грибкову кефірну закваску.

Для приготування кефіру вносили 3 % кефірної грибкової закваски у молоко, пастеризоване за температури $(87 \pm 2)^\circ\text{C}$ з витримкою 10 хв. Сквашування молока проводили в термостатній камері за температури $(24 \pm 2)^\circ\text{C}$; наступні операції охолодження до температури $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ та визрівання згустку впродовж 12 годин – за традиційною технологією кефіру.

Мікробіологічні аналізування та визначення фізико-хімічних показників здійснювали стандартними методами (ГОСТ 10444.11-89, ГОСТ 10444.12-88, ГОСТ 26670-91, ГОСТ 3624-92), вміст летких речовин – методом газорідинної хроматографії. Ідентифікацію мікрофлори – за сукупністю морфологічних ознак та біохімічних тестів [4-6]. Повторюваність дослідів триразова.

Результати досліджень та їх обговорення. Склад мікрофлори кефірних грибків (двічі пересаджених у свіже пастеризоване молоко після 24-годинного нарощування за температури $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$, промитих пастеризованим молоком і розмелених), грибкової закваски та свіжовиробленого з використанням 3% цієї закваски кефіру подано у табл.1.

1. Склад мікрофлори кефірних грибків, грибкової закваски та кефіру

Чисельність, lg КУО/г	Кефірні грибки	Грибкова закваска	Кефір
Гомоферментативні лактококи та стрептококи	$7,7 \pm 0,5$	$8,5 \pm 0,5$	$8,4 \pm 0,5$
Гетероферментативні лактококи та лейконостоки	$8,0 \pm 0,5$	$8,6 \pm 0,5$	$8,2 \pm 0,5$
Термофільні та мезофільні лактобацили	$8,0 \pm 0,5$	$7,5 \pm 0,5$	$7,0 \pm 0,5$
Дріжджі	$7,5 \pm 0,5$	$6,2 \pm 0,4$	$4,7 \pm 0,3$
Оцтовокислі бактерії	$6,8 \pm 0,5$	$5,5 \pm 0,3$	$3,5 \pm 0,5$

Мікрофлора кефірних грибків була представлена гомо- та гетероферментативними лактококами, термофільними і мезофільними лактобацилами, дріжджами та оцтовокислими бактеріями. Ці основні групи мікроорганізмів спостерігали і в грибковій заквасці та кефірі, хоча чисельність деяких родів бактерій змінювалася. Так, кількість лактококів у заквасці та кефірі була на $0,5 \text{ lg КУО/г}$ вищою, ніж у складі грибків, тоді як дріжджів і оцтовокислих бактерій - значно меншою. У кефірі чисельність останніх становила $4,7 \pm 0,3 \text{ lg КУО/г}$ та $3,5 \pm 0,5 \text{ lg КУО/г}$, відповідно, що, очевидно, пов'язано з повільною швидкістю їхнього росту у молоці.

Склад мікрофлори кефірних грибків та грибової кефірної закваски представлено на рис. 1.

У кефірних грибках домінуючими видами були лактококи *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* (до 30%), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (до 20%) та лактобацили *Lactobacillus* sp. (до 20%). Серед мезофільних лактобактерій також було виділено *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (~7%) та *Leuconostoc* sp. (~7%). Дріжджі складали 1/10 частину мікрофлори кефірного грибка. Частка термофільних стрептококів *Streptococcus thermophilus* не перевищувала 3%. Обов'язковою мікрофлорою кефірного грибка були оцтовокислі бактерії *Acetobacter aceti* у кількості до 3%. Видовий склад мікрофлори грибової закваски був аналогічним, причому значну частку – близько 45% та 35% – становили, відповідно, ароматоутворювальні лактококи *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* та гомоферментативні *L. lactis* subsp. *lactis*. Відносний вміст інших представників значно зменшувався порівняно з мікрофлорою кефірних грибків: частка лактобацил знизилася на 12%, а інших бактерій – істотніше: лейконостоків у 14 разів, термофільних стрептококів і оцтовокислих бактерій у 30 разів. Дріжджі у грибовій заквасці складали лише 0,5% від загальної чисельності мікроорганізмів.

Розшифровано в біоценозі кефірних грибків та кефіру видовий склад штамів домінуючих лактобацил. Обстежені молочнокислі палички було віднесено до видів *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus brevis*. Слід зазначити, що ці лактобацили характеризуються вираженою антагоністичною дією щодо бактерій групи кишкової палички.

У кефірних грибках встановлено дві групи дріжджів. До першої належать види, що здатні зброджувати лактозу з утворенням спирту та вуглекислого газу, – переважно *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus*, *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*, а також *Brettanomyces anomalus*, *Debaryomyces hansenii*. Другу групу складають дріжджі, які не зброджують лактозу (*Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces*

kluyveri, *Saccharomyces exiguus*, *Pichia*), причому їхня частка у кефірних грибках переважала.

Збалансованість росту дріжджів, молочнокислих та оцтовокислих бактерій обумовлена симбіотичним характером взаємовідносин цих груп мікроорганізмів. Під час росту дріжджі збагачують середовище рядом незамінних продуктів свого метаболізму, завдяки чому воно стає придатнішим для розвитку молочнокислих бактерій. Крім того, утворений спирт гальмує швидкість поділу клітин молочнокислих мікроорганізмів, тим самим сповільнює старіння популяції, тобто лактобактерії довше знаходяться у активному стані. Разом з тим, дріжджі, розвиваючись у асоціації з молочнокислими бактеріями, отримують певні переваги. Володіючи потужнішою системою протеолітичних ферментів, лактобактерії розщеплюють білки молока та сприяють живленню дріжджів. Підкислення середовища, спричинене зброджуванням лактози молочнокислими бактеріями з утворенням значної кількості молочної кислоти, створює оптимальну для росту дріжджів кислотність [7].

Також варто відзначити, що під час виробництва кефіру збалансований розвиток всіх груп мікроорганізмів гарантує одержання продукту з характерними органолептичними властивостями. Так, мікроорганізми роду *Lactobacillus* продукують молочну кислоту, специфічні екзополісахариди та мають високу антагоністичну активність щодо сторонньої мікрофлори; *Leuconostoc* ssp. та *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* утворюють ряд смакоароматичних сполук (діацетил, леткі кислоти, ефіри) та вуглекислий газ; види *L. lactis* subsp. *cremoris* та *S. thermophilus* надають продукту сметаноподібної консистенції; лактозозброджувальні дріжджі – ініціатори спиртового бродіння з утворенням етанолу та CO₂, а оцтовокислі бактерії – продуценти оцтової кислоти, що надає кефіру гострого освіжаючого смаку.

Видовий склад мікрофлори кефірних грибків впливав на властивості виготовленого з їхнім застосуванням. Так, під час сквашування у продукті накопичувалися молочна кислота, вуглекислий газ і такі смако-ароматичні

компоненти, як оцтова, валеріанова та пропіонова кислоти (71,3%, 4,1 та 2,8% від суми летких речовин, відповідно), етанол, діацетил (табл. 2).

2. Відносний вміст летких смако-ароматичних компонентів кефіру

Леткі сполуки	Відносний вміст, %
Етанол	19,58
Оцтова кислота	71,32
Пропіонова кислота	2,87
Ізомасляна кислота	0,20
Масляна кислота	0,12
Валеріанова кислота	4,15
Сума високоатомних жирних кислот (C ₁₀ -C ₁₈)	1,68
Діацетил	0,08

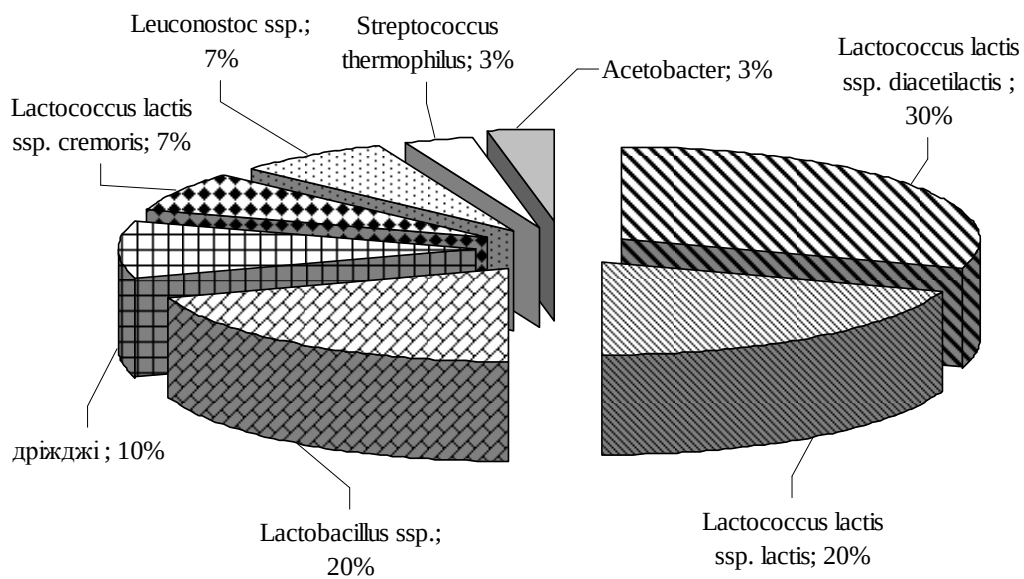
Виготовлений зі застосуванням кефірних грибків кисломолочний напій здатний зберігатися не менше ніж 14 діб без істотних змін чисельності та співвідношення між основними представниками мікрофлори та погіршення показників якості й безпеки.

Висновки. Одержані результати дають змогу охарактеризувати мікрофлору кефірних грибків як специфічний природний симбіоз молочнокислих, оцтовокислих бактерій та дріжджів. Доведено ідентичність якісного складу мікрофлори кефірних грибків, грибкової закваски і кефіру та показано різницю у кількісному співвідношенні між характерними складниками. Кефіру, виготовленому з використанням закваски на кефірних грибках, притаманний гострий тонізуючий смак завдяки вмісту продуктів молочнокислого та спиртового бродіння: молочної та летких органічних кислот, етанолу, діацетилену, вуглекислого газу.

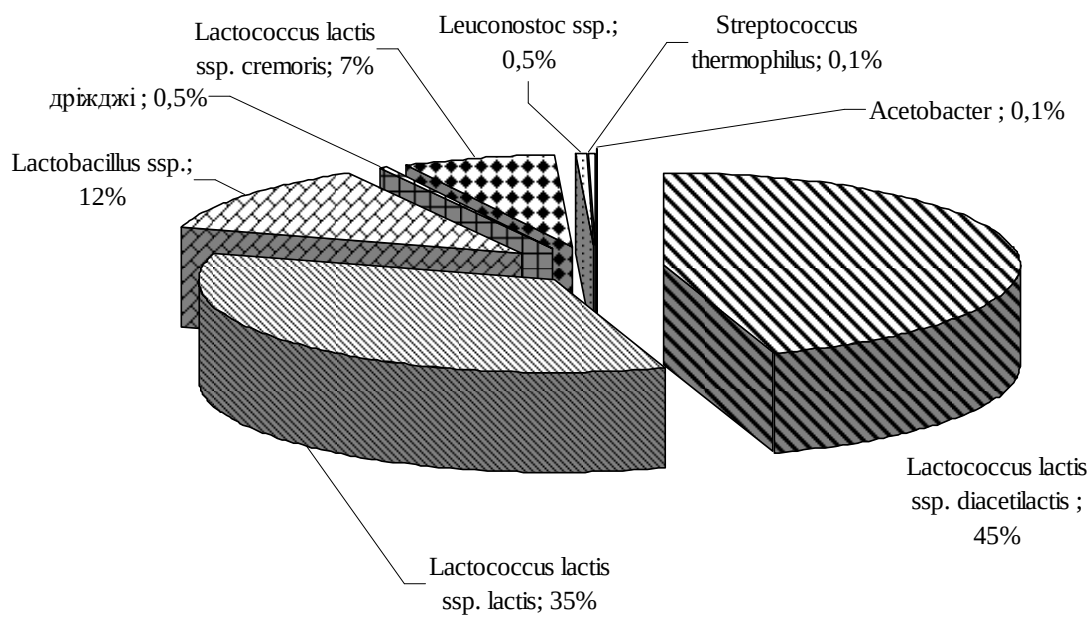
Бібліографія

1. Garrote G. L., Abraham A. G., De Antoni G. L. Chemical and microbiological characterization of kefir grains // Journal of dairy research. – 2001. - Vol. 68, N 4, P. 639-652.

2. Воробьева А.И., Витовская Г.А., Елинов Н.П., Кориунов А.И. Изучение химического состава кефирных грибков // Молочная промышленность. - №7. - 1987. - С.14-16
3. Farnworth E.R. Kefir – a complex probiotic // Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods. – 2004 . – Vol. 2. – P. 1–17.
4. *Taxonomic* outline of the procaryotes Bergey's manual of systematic bacteriology, 2nd Edition, 2004.
5. Kreger-van Rij N.I.W. The Yeasts. A Taxonomic Study. 3d ed. Elsevier Science Publishers, Amsterdam: 1984.- 1082 p.
6. Скородумова А.М. Практическое руководство по технической микробиологии молока и молочных продуктов. – М.: Пищепромиздат, 1963. – 308 с.
7. Королева Н.С. Основы микробиологии и гигиены молока и молочных продуктов. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. – 168 с.



a)



б)

Рис. 1. Склад мікрофлори кефірних грибків (а) та грибової кефірної закваски (б)