

## **КЕФИР: СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА МИКРОФЛОРУ И ТЕХНОЛОГИЮ**

*Шульга Наталия Михайловна, к.т.н., старший научный сотрудник ТИММ НААН  
Украины*

Из более чем 150 наименований кисломолочных напитков, представленных на рынке, безоговорочным лидером является кефир - в странах постсоветского пространства его часть составляет около 60 % от объема всей кисломолочной продукции.

Этот напиток раньше нигде, кроме СССР, не выпускался. Однако было бы ошибкой считать, что в мире не оценили непревзойденный вкус кефира - ныне его вырабатывают во многих странах. Так, в Швеции выпускают его разновидность «лонгмйолк», а в Европе кефир вырабатывают с использованием специально селекционированных лактобацилл.

Родиной кефира принято считать Северную Осетию, а именно, Карачай (название «кефир» - тюркского происхождения: это производное от слов «кеф», что значит пена, и «кефли» - бодрый, веселый).

Секрет изготовления кефира на Кавказе долгое время был строгой тайной, как секрет доброго сыра в Европе в семьях сыроделов, и передавался из поколения в поколение. Изготовление кефира у карачаевцев осуществлялось следующим образом: в кожаный бурдюк наливали парное коровье молоко (а лучше козье или овечье) и для закваски бросали горсть кефирных грибков. Бурдюк днем размещали на солнце во дворе или на обочине дороги, а на ночь переносили в помещение, подвешивая над дверью, и каждый, кто проходил мимо него, должен был толкнуть бурдюк, перемешивая его содержимое. Как правило, в каждой семье был свой запас сухих грибков. Но в случае истощения этого запаса получить новые грибки было очень нелегким делом: у кавказских народов существовало табу, которое запрещало отдавать грибки другому хозяину. Считалось, что тогда другая часть грибков погибнет, поэтому соседи их прятали друг от друга. Чтобы завладеть кефирными зернами, пастухи прибегали к магическому обряду «гипи урлау» - «похищение кефира». Они верили, что тогда удастся обмануть злого духа. Учитывая такие традиции, кефир продолжительное

время был вне внимания этнографических и научных исследований. Известный исследователь XIX века В.Игнатъев писал: "До последнего времени добыть эти кефирные зерна представлялось крайне трудным делом".

Первое официальное упоминание о кефире как целебном напитке относят к 1867 году, и это открытие заинтересовало ученых как в России, так и за границей. Промышленный выпуск кефира был начат в 1909 году, и первым его потребителем была Боткинская больница Москвы.

На современном этапе производство кефира регулируется международными и государственными нормативными документами. Согласно Codex Standard 243-2003, к нормальной микрофлоре кефирной закваски относят такие основные группы бактерий: дрожжи (лактозосбраживающие *Kluveromyces marxianus* и те, что не ферментируют лактозу, - *Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Saccharomyces exiguus*); гомо- и гетероферментативные молочнокислые кокки родов *Lactococcus*, *Leuconostoc*, молочнокислые палочки *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus casei*, уксуснокислые бактерии *Acetobacter aceti*. Роль этих микроорганизмов исключительно важная, поскольку именно они, развиваясь в тесном симбиозе во время ферментации молока, обеспечивают специфические органолептические показатели и функциональную активность готового продукта. Согласно действующему в Украине государственному стандарту ДСТУ 4417:2005 кефир - продукт смешанного молочнокислого и спиртового брожения, который вырабатывают сквашиванием молока симбиотической кефирной закваской на кефирных грибках или концентратом грибковой кефирной закваски. Он характеризуется однородной, вязкой консистенцией, с разрушенным или неразрушенным сгустком (в зависимости от технологии производства), допускается незначительное отделение сыворотки. Особенностью этого кисломолочного напитка является наличие газа, который образуется вследствие жизнедеятельности микрофлоры кефирной закваски. Вкус кефира - щиплющий, без посторонних привкусов и запахов, запах - чистый, кисломолочный. В кефире контролируют количество жизнеспособных молочнокислых бактерий, которое должно быть не менее  $1 \cdot 10^7$  КОЕ/см<sup>3</sup>, и дрожжей - не менее  $1 \cdot 10^3$  КОЕ/см<sup>3</sup>

(таблица 1). Следует подчеркнуть, что показатель содержания дрожжей на последний день хранения продукта в странах ЕС различается. В частности, в соответствии со стандартом IDF количество дрожжей в кефире должно быть не менее  $10^4$  КОЕ/см<sup>3</sup>, тогда как по национальными стандартам разных стран этот показатель варьирует: в Польше -  $10^2$  КОЕ/см<sup>3</sup>, Литве –  $10^3$  КОЕ/см<sup>3</sup>, России -  $10^4$  КОЕ/см<sup>3</sup>.

Таблица 1. Микробиологические показатели кефира согласно ДСТУ 4417:2005 «Кефир. Технические условия»

| Показатель  | Норма          |
|---|----------------|
| Количество жизнеспособных молочнокислых бактерий, КОЕ в 1 см <sup>3</sup> , не менее  | $1 \cdot 10^7$ |
| Количество дрожжей, КОЕ в 1 см <sup>3</sup> , не менее                                | $1 \cdot 10^3$ |
| Бактерии группы кишечных палочек (колиформы), в 0,1 см <sup>3</sup>                   | Не разрешено   |
| Патогенные микроорганизмы, в том числе бактерии рода Сальмонела, в 25 см <sup>3</sup> | Не разрешено   |
| <i>Staphylococcus aureus</i> , в 1,0 см <sup>3</sup>                                  | Не разрешено   |
| Плесени, КОЕ в 1 см <sup>3</sup> , не более   | 50             |

Пищевая ценность кефира зависит от таких факторов, как состав сырья, условия ферментации и т.п. Содержание молочной кислоты в готовом продукте находится в пределах 0,8-1,5%, этанола - 0,05-2,00%, углекислого газа - до 0,2%. Кефир также содержит широкий спектр и других продуктов жизнедеятельности кефирной микрофлоры, а именно: органические кислоты (уксусная, пропионовая, муравьиная), специфические вкусо-ароматические соединения, вязкие экзополимеры и др. Высокий уровень протеолитической активности лактобацилл приводит к накоплению в продукте свободных аминокислот, в том числе и незаменимых, а в результате жизнедеятельности дрожжей кефир обогащается витаминами В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, К, фолиевой кислотой, биотином.

Хорошо известны функциональные свойства кефира: антагонистическая активность по отношению к широкому кругу грампозитивных и

граммнегативных бактерий, содействие пищеварению, усиление иммунитета. Основные метаболиты дрожжей и молочнокислых бактерий грибковой кефирной закваски - спирт и молочная кислота - наряду с другими специфическими антибактериальными соединениями предотвращают развитие посторонних микроорганизмов. Сочетание этих и других продуктов брожения значительно усиливает функциональные свойства кисломолочного напитка, а образование некоторыми микроорганизмами бактериоцинов и биологически активных полисахаридов дает возможность отнести кефир к комплексным пробиотикам.

Целебное физиологическое действие кефира определяется его «крепостью», что зависит от продолжительности процесса его созревания. Так, кефир является эффективным регулятором моторики кишечника: «молодой» кефир (однодневный) имеет слабительное действие, а выдержанный (трехдневный) - наоборот, укрепляющее. Благодаря молочной кислоте и углекислому газу кефир хорошо утоляет жажду, усиливает аппетит, стимулируя пищеварительную функцию желудка и кишечника. По данным новых научных исследований было установлено, что кефир положительно влияет на защитные системы человека, на нервную систему, оказывая мягкое успокоительное действие.

Уникальность данного напитка обусловлена применением кефирных грибков - живого естественного соединения активных и лизированных микроорганизмов и дрожжей, полисахаридов, коагулированных белков и продуктов метаболизма бактерий. С точки зрения биологии кефирные грибки - это живые тела, способные к самостоятельному развитию и воспроизведению. По форме они похожи на соцветие цветной капусты, размером от 0,3 до 3,5 см в диаметре, от белого до светло-желтого цвета (рис. 1). Приблизительный химический состав кефирных грибков следующий: 89-90% воды, 0,3% жирел, 3,2% белков, 6,0% углеводов и 0,7% минеральных компонентов. Однако в лабораторных условиях искусственно создать кефирный грибок из отдельных его составных частей еще не удалось никому.



Рис. 1 - Кефирные грибки

Исследованию микробиологического состава кефирных грибков и грибковой закваски уделялось много внимания ведущими микробиологами мира в течение последних десятилетий. Достоверно известно, что они содержат молочнокислые бактерии, дрожжи и уксуснокислые бактерии. Соотношение между микроорганизмами кефирных грибков - динамично и существенным образом зависит от многих факторов, таких как происхождение кефирных грибков, состав молока и способ его обработки, условия культивирования и хранения. Известный русский диетолог А. А. Дружинина писала так: «Кефирные грибки представляют собой яркий пример биологического симбиоза (сожительства) сразу нескольких видов микроорганизмов, и этот симбиоз настолько сложный и неделимый, что до сих пор не удалось до конца его проанализировать и выделить в чистых культурах входящие в него элементы, чтобы снова составить из них эти грибки».

Микрофлора кефирных грибков представлена гомо- и гетероферментативными лактококками, термофильными и мезофильными лактобациллами, дрожжами и уксуснокислыми бактериями (таблица 2). Эти основные группы микроорганизмов наблюдаются как в грибковой кефирной закваске, так и в кефире, хотя численность некоторых родов бактерий

различается. В кефирных грибочках были обнаружены молочнокислые микроорганизмы видов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* (до 30%), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (до 20%) и лактобациллы *Lactobacillus* sp. (до 20%). Среди мезофильных лактобактерий также были выделены *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (~7%) и *Leuconostoc* sp. (~7%).

Видовой состав доминирующих лактобацилл следующий: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus brevis*. Следует отметить, что эти лактобациллы характеризуются выраженным антагонистическим действием относительно бактерий группы кишечной палочки.

Таблица 2. Основная микрофлора кефирных грибочков и грибочковой кефирной закваски

|   |  |
|---|--|
| Гомоферментативные лактококки                   | <i>Lactobacillus lactis</i> subsp. <i>lactis</i><br><i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>   |
| Гетероферментативные лактококки и лейконостокки | <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i> ,<br><i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> ,<br><i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i> ,<br><i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>   |
| Термофильные стрептококки                       | <i>Streptococcus thermophilus</i>  |
| Лактобациллы (мезофильные и термофильные)       | <i>Lactobacillus kefir</i> ,<br><i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>casei</i> ,<br><i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i> ,<br><i>Lactobacillus plantarum</i> ,<br><i>Lactobacillus acidophilus</i> ,<br><i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ,<br><i>Lactobacillus lactis</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> |
| Дрожжи  | <i>Kluyveromyces marxianus</i> ( <i>Candida kefir</i> ),<br><i>Brettanomyces anomalus</i> ,<br><i>Saccharomyces cerevisiae</i> ,<br><i>Saccharomyces exiguus</i><br><i>Saccharomyces unisporus</i> ,<br><i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Pichia fermentans</i>  |
| Уксуснокислые бактерии                          | <i>Acetobacter aceti</i>   |

Обязательной микрофлорой кефирного грибка являются уксуснокислые бактерии *Acetobacter aceti* – их часть составляет до 3% от общего количества микрофлоры кефирного грибка, а также дрожжи – 10%. Дрожжи в кефире представлены двумя группами. К первой принадлежат виды, которые способны к сбраживанию молочного сахара – преимущественно это *Kluveromyces marxianus* var. *marxianus*, *Kluveromyces marxianus* var. *lactis*. Они усваивают лактозу по схеме спиртового брожения, конечными продуктами которого является спирт и углекислый газ. Другую группу составляют дрожжи родов *Saccharomyces* и *Pichia*, которые ассимилируют лактозу, не провоцируя газообразование и накопление значительных количеств продуктов жизнедеятельности. Такие дрожжи в кефирных грибках и закваске находятся в большем количестве.

Сбалансированность роста дрожжей, молочнокислых и уксуснокислых бактерий обусловлена симбиотическим характером взаимоотношений этих групп микроорганизмов. Во время роста дрожжи обогащают среду специфическими метаболитами, которые стимулируют развитие молочнокислых бактерий. Кроме того, образованный спирт тормозит скорость деления клеток молочнокислых микроорганизмов, тем самым замедляет старение популяции, т.е. лактобактерии дольше находятся в активном состоянии. Со своей стороны дрожжи, развиваясь в ассоциации с молочнокислыми бактериями, получают определенные преимущества. Владея более сильной системой протеолитических ферментов, молочнокислые микроорганизмы расщепляют белки молока и таким образом поставляют дрожжам легкодоступные источники азота. Подкисление среды, вызванное брожением лактозы молочнокислыми бактериями с образованием значительного количества молочной кислоты, создает оптимальную для роста дрожжей кислотность.

Также следует подчеркнуть, что во время производства кефира сбалансированное развитие всех групп микроорганизмов гарантирует получение продукта с характерными органолептическими свойствами. Так, микроорганизмы рода *Lactobacillus* продуцируют молочную кислоту и подавляют развитие посторонней микрофлоры. *Leuconostoc* ssp. и *L. lactis* subsp. *lactis* biovar.

*diacetylactis* образуют ряд вкусо-ароматических соединений (диацетил, летучие органические кислоты, эфиры) и углекислый газ, влияя на органолептические характеристики кефира, а лактобактерии видов *L. lactis* subsp. *cremoris* и *S. thermophilus* способствуют формированию густой сметанообразной консистенции. Лактозопозитивные дрожжи – инициаторы спиртового брожения с образованием этанола и CO<sub>2</sub>, а уксуснокислые бактерии – продуценты уксусной кислоты, что обуславливает острый освежающий вкуса кефира.

Для развития каждой группы микроорганизмов необходимы определенные условия: температура, кислотность, степень аэрации, и т.д. В результате наблюдений за изменением микрофлоры молока под действием кефирных грибков было установлено, что сначала развиваются лактококки. Со снижением pH среды интенсифицируется рост молочнокислых палочек и дрожжей, которые со временем угнетают развитие лактококков. При постоянном перекарении грибковой закваски доминирующими ее составляющими будут лактобациллы, дрожжи и уксуснокислые бактерии вследствие высокой кислотности; в случае частой смены молока создаются более благоприятные условия для развития мезофильных молочнокислых бактерий.

Таким образом, необходимым условием получения высококачественного кефира является поддержание состава кефирной микрофлоры на определенном уровне, который обеспечивает необходимый ход ферментационного процесса.

Раньше кефир вырабатывали путем непосредственного внесения в пастеризованное и охлажденное до температуры 20-25°C молоко кефирных грибков в количестве 2-10%, сквашивания в течение до 24 часов и отделения кефирных грибков фильтрованием.

Промышленное производство кефира состоит из таких технологических операций: предварительное приготовление закваски на кефирных грибах и заквашивание ею пастеризованного молока из расчета 1-5% от количества молочной смеси, ферментация до образования сгустка при температуре от 20°C до 32°C и последующее созревание продукта при постепенном снижении температуры. Несколько десятилетий назад кефир вырабатывали термостатным

способом, в современных условиях этот кисломолочный продукт вырабатывают резервуарным способом.

С развитием биотехнологии стало возможным получение сухих бактериальных концентратов кефирной грибковой закваски прямого внесения, которые избавляют от необходимости готовить производственную кефирную закваску. Такие заквасочные культуры удобны в использовании, дают возможность минимизировать риск вторичной контаминации и инфицирования бактериофагами. Следует отметить, что проблема бактериофагии остро стоит на многих молокоперерабатывающих предприятиях. Однако в случае производства кефира доказано, что в отличие от искусственных заквасочных препаратов на основе мезофильных лактококков с добавлением дрожжей, применение настоящей грибковой кефирной закваски позволяет избежать поражения бактериофагами. Это объясняется поливидовым составом кефирной закваски и ее способностью к саморегулированию.

Известно, что важным фактором, который влияет на развитие микрофлоры и формирование показателей качества готового продукта, является температура сквашивания. Кефир, выработанный при более низких температурах сквашивания, как правило, характеризуется тонизирующим и более острым вкусом, однако менее плотной консистенцией. Вместе с тем продукту, полученному при температуре свыше 28 °С, присуща вязкая консистенция и менее выраженный вкус и аромат, специфический для традиционного кефира. В зависимости от режима сквашивания можно влиять на конечные органолептические показатели кефира и получить продукт с желаемыми параметрами качества. Технологи молочных предприятий могут варьировать температурный режим ферментации молочной основы в зависимости от вкусов потребителей, технологической схемы производства, технической базы.

Нарушение технологических режимов производства часто является причиной изготовления недоброкачественного кефира. Ниже приводим Наиболее распространенные недостатки продукта и рекомендации, что которые помогут избежать этих нежелательных явлений.

Чтобы предотвратить образование *жидкой консистенции кефира с отстоем сыворотки*, необходимо применять при производстве кисломолочных напитков температуру пастеризации не менее 85-87°C. При таком режиме происходит агрегация денатурированных сывороточных белков, которые во время сквашивания молока коагулируют вместе с казеином, образуя плотный сгусток без отделения сыворотки. Денатурированные сывороточные белки принимают участие в образовании структуры молочного сгустка. Также большое значение имеет выбор и соблюдение режимов гомогенизации. Во время измельчения жировых шариков площадь их поверхности увеличивается, и на ней адсорбируются поверхностно-активные фракции белков, формируя более прочную структуру.

Перемешивание кефира кислотностью меньше 85°Т приводит к отстою сыворотки, что связано с влагоудерживающей способностью казеина. Продолжительность перемешивания зависит от конструкции мешалки и прочности сгустка. Важно следить за частотой вращения ротора и работой насосов во время подачи продукта на фасовку (скорость движения продукта в насосе не должна превышать 0,01 м/с). Во избежание ухудшения консистенции предпочтительнее осуществлять транспортировку кефира к упаковочным автоматам «самотеком».

Также следует подчеркнуть, что для производства кефира необходимо применять молоко плотностью свыше 1027 кг/м<sup>3</sup> с высоким содержанием сухих веществ (не менее 11%), особенно белка.

Недостаток *«крупитчатая консистенция»* обусловлен плохим качеством сырья, а именно низкой термостойкостью белков молока. Поскольку, согласно «Закону о молоке», кефир отнесен к национальным молочным продуктам, применение стабилизаторов во время его производства запрещено. Поэтому необходимо тщательно подходить к отбору сырья для изготовления кефира, анализируя его по алкогольной пробе.

Порок *«невыраженный, простоквашный вкус»* кефира фиксируют в случае недостаточного развития дрожжей, ароматобразующих и уксуснокислых

бактерий. Возникновению порока способствует интенсификация сквашивания молочной основы, повышение температуры ферментации, недостаточное вызревание кефира. Высокие температуры сквашивания (свыше 28°C) в производстве кефира нежелательны, несмотря на то, что такие режимы являются оптимальными для развития дрожжей. При таких температурах активизируется молочнокислое брожение, однако в продукте не накапливается достаточного количества ароматобразующей микрофлоры, и соответственно, продуктов их метаболизма: летучих органических кислот, углекислого газа, диацетила и ацетоина, эфиров.

Важным фактором в формировании характерных органолептических показателей кефира является его созревание. Наиболее благоприятный режим – при температуре 12-15°C, что дает возможность получить продукт с максимальным содержанием вкусо-ароматических компонентов. Ароматобразующие бактерии и дрожжи при этой температуре развиваются медленно, что предупреждает бурное газообразование. Вместе с тем, происходит набухание белков, что повышает вязкость молочного сгустка.

*Медленное сквашивание* кефира наблюдают как в результате ослабления активности закваски, так и применения недоброкачественного молока, фальсифицированного ингибиторами, антибиотиками, буферными солями и т.п. При этом повышение температуры сквашивания не всегда является эффективным мероприятием. В случае применения грибковой кефирной закваски необходимо проверить ее активность, поскольку такие проблемы свидетельствуют о нарушении баланса микрофлоры. Если на предприятии применяют заквасочные культуры прямого внесения, которые кроме микрофлоры кефирного грибка, дополнительно обогащены лактококками, следует обратить внимание на фаговый мониторинг.

*Загрязнение кефира бактериями группы кишечной палочки* – проблема, с которой сталкиваются все предприятия. Ее корни - несоблюдение санитарно-гигиенических условий на производстве, что служит причиной вторичной контаминации. Во время пастеризации молочной основы бактерии группы

кишечной палочки гибнут, поэтому их обнаружение в продукте свидетельствует о недостаточно тщательном мытье и дезинфекции молокопроводов, особенно в труднодоступных узлах, танков для сквашивания, фасовочного оборудования, несоблюдение правил личной гигиены персонала.

Подводя итоги вышеизложенного, следует отметить следующее:

- имея многовековую историю, на современном этапе кефир остается одним из наиболее популярных кисломолочных напитков, уникальность которого обусловлена применением микрофлоры кефирных грибков;

- при производстве кефира необходимо создать условия для достаточного развития в симбиозе всех компонентов микрофлоры, а залогом получения продукта стабильно высокого качества является соблюдение всех технологических режимов.