

ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ПОДХОД К РЕЗЕРВИРОВАНИЮ КЕФИРНЫХ ГРИБКОВ В УСЛОВИЯХ ЗАМОРОЗКИ

Соколова О.В., канд. техн. наук

ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем
им. В.М. Горбатова» РАН, г. Москва

Аннотация. Кефирные грибки – естественный симбиоз микроорганизмов. В статье предложен способ резервирования кефирных грибов методом замораживания при смешивании с защитными средами. После 30-дневного замораживания кефирных грибов в предложенных средах для замораживания и дефростирования, грибки культивировали и отмечали, через сколько суток происходит восстановление их активности. По результатам исследований выбраны два базовых компонента для создания защитной среды для замораживания кефирных грибов.

Самым популярным кисломолочным продуктом в России уже не одно десятилетие признается кефир. Национальный кисломолочный напиток с богатой историей и уникальным вкусом. Однако в современном мире производители кефира всё чаще сталкиваются с проблемой культивирования кефирных грибов.

Кефирные грибки представляют собой плотные образования микробной природы. Микроорганизмы, входящие в состав кефирных грибов, образуют устойчивый симбиоз. Согласно последним данным НИИ молочной промышленности, в состав симбиоза кефирных грибов входит более 50 видов микроорганизмов (в том числе молочнокислые микроорганизмы, дрожжи, бифидобактерии, уксуснокислые бактерии и др). Взаимодействуя между собой, микроорганизмы кефирных грибов продуцируют значительное количество экзополисахаридов, образующих устойчивую матрицу, называемую кефиран [1].

В результате разрастания популяций микроорганизмов симбиоза, увеличивается масса и объем кефирана. Внешние проявления этого процесса называют ростом кефирного грибка.

Производство кефира – двухступенчатый процесс. На первом этапе культивируют кефирные грибки, получая при этом закваску на кефирных грибах; на втором этапе в молоко вносят закваску на кефирных грибах, производят сквашивание, и получают кефир [2,3].

Производство кефира на кефирных грибах всегда сопряжено с рядом трудностей для завода. Основным затруднением является высокий риск контаминации дрожжевой микрофлорой производственных линий. По этой причине на заводе обязательно должен быть отведен специализированный кефирный цех, в котором должно производиться культивирование кефирных грибов и поддержание их жизнеспособности. Кроме того, применение кефирных грибов зачастую затруднительно из-за спонтанного снижения их активности. С этой проблемой сталкивался каждый завод, производящий кефир. Как правило, че-

рез некоторое время кефирные грибки самостоятельно регенерируют после потери активности и полностью восстанавливают свои свойства. Хотя встречаются случаи полного лизиса симбиоза.

В периоды снижения активности кефирных грибов, ими продуцируется недостаточное количество закваски, вследствие чего производство кефира затруднительно.

Как правило, сталкиваясь с такой проблемой, заводы прибегают к использованию «кефирных» заквасок прямого внесения. Они представляют собой подобранную композицию микроорганизмов, при использовании которой полученный кисломолочный продукт обладает сходной с кефиром органолептической гаммой и требуемыми микробиологическими характеристиками. Однако в случае применения заквасок прямого внесения получаемый кисломолочный напиток не является кефиром, хотя его органолептический профиль близок к кефирному [4,5].

Альтернативным вариантом, позволяющим избежать длительного использования заквасок прямого внесения, в случае потери активности кефирных грибов может быть создание собственного резерва кефирных грибов в фазе их наибольшей активности.

В промышленной микробиологии широко применяется резервирование микроорганизмов методами замораживания, высушивания или сублимирования.

В настоящее время единственным методом резервирования кефирных грибов является сублимационная сушка. Его недостатком является длительность, стоимость, энергозатратность и невозможность осуществить на молокоперерабатывающих предприятиях.

Прямое высушивание влечет гибель симбиоза, а при непосредственном замораживании отмирают отдельные виды микроорганизмов, что ведет к дисбалансу микрофлоры и ингибированию развития симбиоза вплоть до гибели.

При замораживании живых клеток микроорганизмов, образующийся лед вызывает повреждение бактериальных клеток, что приводит к их лизису. Внешне это проявляется как медленное сворачивание молока или же полная несвертываемость молока кефирными грибами, замедление прибавления биомассы грибов, низкая титруемая кислотность, иссушение поверхности грибов.

Известно, что ряд веществ повышают эластичность бактериальных клеток, улучшая выживаемость микроорганизмов при замораживании. Такие вещества называют защитными средами и используют в технологиях криозамораживания живых бактериальных культур. Как правило, в качестве защитных сред применяют растворы, содержащие большие количества полисахаридов и углеводов. Литературный обзор по данной тематике показал, что для молочнокислых микроорганизмов чаще всего применяют защитные среды, в основе которых используется обезжиренное стерильное молоко, цитрат натрия, желатоза, и растворы сахаров.

Вышеизложенные предпосылки легли в основу рабочей гипотезы о возможности предотвращения отмирания отдельных видов микроорганизмов при замораживании кефирных грибков в защитной среде.

Первым этапом исследования являлось определение основного компонента защитной среды. Для этого нарастили популяцию кефирного грибка и разделили на пять равных по массе образцов. Четыре образца поместили в среды для заморозки, из них три являлись защитными, и одна – стрессовой (дистиллированная стерильная вода). Грибки помещали в защитные среды из расчета 1 часть кефирных грибков к 2 частям защитной среды, и еще один был оставлен в качестве контрольного образца, его продолжали культивировать согласно принятой технологии. Условные номера и состав защитных сред представлены в таблице 1.

Таблица 1

Условное обозначение и состав сред для заморозки

Условное наименование среды для заморозки	Состав среды для заморозки
Среда №1	Вода стерильная
Среда №2	Обезжиренное стерильное молоко
Среда №3	Желатоза стерильная
Среда №4	Сахароза 30%-й раствор стерильный

Как правило, при замораживании бактериальных культур применяют соотношения замораживаемой культуры к защитной среде 1:1, но для замораживания кефирных грибков принято решение использовать соотношение грибков к защитной среде 1:2.

Кефирные грибки помещали в пакеты из полимерных материалов для заморозки, непосредственно в пакетах смешивали с защитными средами и замораживали при температуре $(-18 \pm 1)^{\circ}\text{C}$. Пакеты с кефирными грибами выдерживали при этой температуре 30 суток, после чего дефростировали в щадящем режиме при $(2-6)^{\circ}\text{C}$. После полного оттаивания проводили визуальный осмотр, при этом грибки сравнивали с контрольным образцом. Результаты визуального осмотра и фотографии образцов представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты визуального осмотра кефирных грибков после дефростирования

Условное обозначение защитной среды	Результаты визуального осмотра	Фотография образца
1	2	3
Контрольный образец	Кефирные грибки белые, равномерно покрыты белой слизью, при помещении грибков на сито и встряхивании слизь остается на грибках, грибки не разделяются на отдельные образования	
Среда №1	Грибки белые с зеленоватым оттенком, выглядят сухими, слизи нет. При помещении грибков на сито и встряхивании разделяются на мелкие отдельные образования	
Среда №2	Грибки белые, слегка покрыты беловатой слизью, при помещении грибков на сито и встряхивании слизь стекает, но грибки не разделяются на отдельные образования	
Среда №3	Грибки желтоватые, не покрыты слизью. При помещении на сито и встряхивании разделяются на крупные отдельные образования	
Среда №4	Грибки белые, покрыты прозрачно-беловатой слизью, при помещении грибков на сито и встряхивании слизь стекает, но грибки не разделяются на отдельные образования	

Далее дефростированные кефирные грибки помещали в обезжиренное пастеризованное молоко и культивировали при обычных режимах с ежедневным контролем изменения массы грибков. За время восстановления активности кефирных грибков принимали количество суток, после которых наблюдалось прибавление массы грибков «привес» по отношению к массе после дефростирования и появление ослизнения поверхности грибков. Также учитывалось значение активной кислотности закваски, получаемой при культивировании кефирных грибков. В случае если восстановление происходило более чем за неделю (6-7 смен молока) – принималось, что грибки не восстанавливаются после замораживания. Таким образом, сделан вывод о невозможности восстановления кефирных грибков после замораживания в среде №1. В среде №2 и среде №4 восстановление произошло приблизительно в одни сроки – на 5 сутки после дефростирования. В среде №3 восстановление отмечено почти на границе невозможности, то есть после 6 смен молока.

По результатам работы сделан вывод о перспективности использования замораживания кефирных грибков в условиях защитных сред. При этом созданы предпосылки для создания специализированной защитной среды для замораживания кефирных грибков. Определены и рекомендованы базовые ингредиенты защитной среды: обезжиренное стерильное молоко и 30%-ный раствор сахарозы.

Литература

1. Еникеев Р.Р. Влияние условий накопления бактериальных полисахаридов при производстве кефира/Р.Р. Еникеев, Д.Н. Бобошко, А.В. Зимичев // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2010. - №5-6. – С. 17-19.
2. Королева Н.С. Способ получения кефира. Патент РФ 2011351./Н.С. Королева, И.В. Рожкова, В.Ф. Семенихина, В.Д. Харитонов. – 1994 г.
3. Рожкова, И.В. Способ получения кефира. Патент РФ 2453125./ И.В. Рожкова, В.Ф. Семенихина, В.Д. Харитонов. – 2012 г.
4. Харитонов, В.Д. Какой продукт не следует называть кефиром/В.Д. Харитонов, И.В. Рожкова, В.Ф. Семенихина, И.А. Макеева//Молочная промышленность. – 2010. - №4. – С. 57-58
5. Харитонов, В.Д. Почему кефирный напиток не может называться кефиром/В.Д. Харитонов, И.В. Рожкова, В.Ф. Семенихина//Молочная промышленность. – 2011. - №11. – С. 44.