

ПРОБЛЕМА ИДЕНТИФИКАЦИИ КЕФИРА И КЕФИРНЫХ НАПИТКОВ: СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К КОНТРОЛЮ ПОДЛИННОСТИ И ПРЕДОТВРАЩЕНИЮ ФАЛЬСИФИКАЦИИ

Коваль Д.Д.

ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности», Российская Федерация, г. Москва

Аннотация. Кефир является одним из наиболее востребованных ферментированных молочных напитков благодаря уникальному содержанию пробиотических микроорганизмов и их метаболитов. Растущий интерес потребителей к функциональным продуктам питания стимулирует расширение производства, что, в свою очередь, сопровождается риском отклонения от традиционной технологии. Одним из наиболее распространённых способов скрытой фальсификации является замена кефирных зёрен заквасками прямого внесения (DVS/DVI), отличающимися по составу микробиоты и биологической ценности продукта. В настоящее время контроль подлинности кефира в Российской Федерации основывается на ГОСТ 31454-2012 и ТР ТС 033/2013, устанавливающих требования к микробиологическим показателям. Однако такие критерии позволяют выявлять лишь косвенные признаки и не обеспечивают надёжной дифференциации традиционного кефира и кефирных напитков. Перспективным направлением верификации подлинности являются молекулярно-генетические методы, включая ПЦР и её модификации, секвенирование 16S и ITS-регионов, а также метагеномные подходы, позволяющие анализировать таксономический и функциональный профиль микробного сообщества. На основе этих методов может быть разработана система паспортизации заквасок, гарантирующая прозрачность технологических процессов и защищающая потребителя от скрытой фальсификации.

Ключевые слова: кефир, кефирный продукт, фальсификация кефира, подлинность кефира, методы определения подлинности кефира, молекулярно-генетические методы выявления фальсификации кефира.

THE PROBLEM OF IDENTIFICATION OF KEFIR AND KEFIR DRINKS: MODERN APPROACHES TO AUTHENTICITY CONTROL AND PREVENTION OF COUNTERFEITING

Koval D.D.

All-Russian Dairy Research Institute, Russian Federation, Moscow

Abstract. Kefir is one of the most popular fermented milk drinks due to its unique composition of probiotic microorganisms and their metabolites. Growing consumer interest in functional foods stimulates the expansion of production, which in turn is accompanied by the risk of deviations from traditional technology. One of the most common types of hidden falsification is the replacement of kefir grains with direct vat set (DVS) or direct vat inoculation (DVI) starters, which differ in microbiota composition and the biological value of the product. Currently, kefir authenticity control in the Russian Federation is based on GOST 31454-2012 and TR CU 033/2013, which establish requirements for microbiological parameters. However, such criteria allow identifying only indirect signs and do not provide reliable differentiation between traditional kefir and kefir drinks. A promising direction for authenticity verification is molecular-genetic methods, including PCR and its modifications, sequencing of 16S and ITS regions, as well as metagenomic approaches that allow

analyzing the taxonomic and functional profile of the microbial community. Based on these methods, a system for starter certification can be developed, guaranteeing transparency of technological processes and protecting consumers from hidden falsification.

Keywords: *kefir; kefir products; kefir falsification; kefir authenticity; methods for authenticity determination; molecular-genetic methods for detecting kefir falsification.*

В последние годы наблюдается устойчивый рост интереса к функциональным продуктам питания, в том числе к ферментированным молочным напиткам, содержащим живые пробиотические микроорганизмы и их метаболиты. Так, согласно маркетинговым исследованиям, глобальный рынок кефира демонстрирует положительную динамику: объём его продаж увеличился с 1,86 млрд долларов США в 2023 году до 1,99 млрд долларов в 2024 году, при среднегодовом темпе роста около 6,8% [1, 2]. Повышенный спрос связывают с признанием пробиотиков как значимого компонента здорового питания, а также с тенденцией к увеличению потребления натуральных функциональных напитков [3 – 8]. Таким образом, кефир перестал быть исключительно традиционным этническим продуктом и занял место в ряду глобально востребованных источников пробиотических микроорганизмов и биологически активных метаболитов.

Однако именно с увеличением масштабов производства всё чаще возникает проблема отклонения от традиционной технологии. Одним из наиболее распространённых таких отклонений становится замена кефирных зёрен на закваски прямого внесения - более технологически удобные, но отличающиеся по составу микрофлоры. Кефирные зёрна - сложное симбиотическое сообщество молочнокислых, уксуснокислых бактерий и дрожжей, объединённых в полисахаридный матрикс [9, 10]. Промышленные закваски прямого внесения (Direct Vat Set, DVS; Direct Vat Inoculation, DVI) представляют собой одноразовые заквасочные препараты - стандартизированные смеси чистых штаммов, выпускаемые в виде лиофилизированных или замороженных концентратов, которые могут использоваться для непосредственного внесения в молоко без предварительного культивирования микроорганизмов [11]. Такая подмена, как правило, не указывается производителем и может рассматриваться как форма скрытой технологической фальсификации. Фальсификация кефира посредством замены традиционной технологии на закваски прямого внесения снижает его пищевую и пробиотическую ценность. В частности, такие продукты могут содержать ограниченное количество видов микроорганизмов и пониженную концентрацию дрожжевых клеток, что ведёт к уменьшению продукции витаминов, аминокислот и летучих метаболитов [12, 13]. Для потребителя это означает получение продукта, свойства которого не соответствуют традиционному кефиру, что сказывается как на органолептических характеристиках, так и на потенциальной биологической активности напитка [14].

В настоящее время в Российской Федерации подлинность кефира определяется нормативными документами, закрепляющими как технологические особенности его производства, так и обязательные микробиологические показатели готового продукта. Согласно ГОСТ 31454-2012 «Кефир. Технические усло-

вия», кефиром может называться только кисломолочный продукт, произведённый путём смешанного (молочнокислого и спиртового) брожения с использованием закваски, приготовленной на кефирных грибках, без добавления чистых культур молочнокислых микроорганизмов и дрожжей. Кроме того, стандарт устанавливает, что содержание молочнокислых микроорганизмов должны быть не менее $1 \cdot 10^7$ КОЕ/г продукта, а количество дрожжей - не менее $1 \cdot 10^4$ КОЕ/г продукта [15]. Аналогичные требования закреплены в Техническом регламенте Таможенного союза ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции», который предписывает поддержание указанных показателей на протяжении всего срока годности продукта [16]. Несоответствие этим нормативам служит основанием для переквалификации продукта в «кефирный напиток» и расценивается как отклонение от установленного определения кефира.

Так, например, в 2022 году в рамках проверки Роскачества при исследовании образцов кефира, был зафиксирован случай отклонения от ГОСТа 31454-2012 и ТР ТС 033/2013 - продукты, маркируемые как «кефир», на деле не содержали характерной для него микрофлоры, формирующейся исключительно в присутствии кефирных зёрен, а именно показатель содержания дрожжей в напитке оказался в два раза ниже нормы, что позволило сделать вывод о том, что представленные на экспертизу образцы являются не кефиром, а кефирным напитком [17].

Тем не менее, в ходе проведенного мониторинга кефира в 2023 году, Роскачество выявило, что доля продукции с нарушениями составила лишь 3,85 % от выборки. В выявленных случаях речь шла преимущественно о несоответствии микробиологических показателей (сниженные значения численности молочнокислых бактерий и дрожжей) и единичных фактах жировой фальсификации, выявляемой по наличию фитостеринов. На основании этих данных был сделан вывод об отсутствии массовой фальсификации кефира на российском рынке.

Вместе с тем следует отметить, что на сегодняшний день отсутствует валидированная методика, позволяющая однозначно идентифицировать тип применённой закваски, то есть дифференцировать традиционные кефирные зёрна и закваски прямого внесения. На практике подлинность кефира определяется косвенно - на основании соответствия установленным нормативам по численности молочнокислых микроорганизмов и дрожжей. Такой подход позволяет выявлять продукты, не отвечающие требованиям ГОСТ 31454-2012 и ТР ТС 033/2013, однако не обеспечивает прямого доказательства замены традиционной кефирной закваски на культуры прямого внесения. Производитель может вносить в состав промышленной закваски дополнительную чистую дрожжевую культуру, что позволит обеспечить нормативное содержание дрожжевых клеток в готовом продукте и тем самым скрыть фальсификацию. Более того, численность дрожжей в кефире, произведённом на кефирных зёрнах, также подвержена значительным колебаниям. Она зависит от целого комплекса технологических факторов: температуры ферментации, длительности выдержки, начальной кислотности сырья, режима перемешивания, наличия или отсутствия кислорода, качества и состава молока, а также условий последую-

щего хранения [18]. В ряде случаев даже аутентичные кефирные зёрна могут содержать ограниченное количество дрожжевого компонента, что дополнительно усложняет идентификацию [19]. Таким образом, вариабельность состава микробиоты и возможность технологических манипуляций со стороны производителя делают количественные микробиологические критерии ненадёжным инструментом для установления подлинности закваски.

Ограниченность традиционных методов выявления фальсификации подчёркивает необходимость разработки современных методов контроля подлинности кефира, среди которых перспективным направлением является применение молекулярно-генетических методов и разработка систем паспортизации заквасок для дифференциации аутентичного кефира и продуктов на основе заквасок прямого внесения.

Молекулярно-генетические методы в контроле подлинности кефира

Полимеразная цепная реакция (ПЦР), ПЦР в реальном времени (РТ-ПЦР, Real-time PCR, qPCR – количественная ПЦР), мультиплексная ПЦР (Multiplex PCR)

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) широко применяется для обнаружения определённых микроорганизмов в сложных микробных сообществах, включая микрофлору кефира. Классическая ПЦР с видоспецифичными праймерами позволяет подтвердить наличие ключевых микроорганизмов, ассоциированных с «настоящим» кефиром (например, *Lactobacillus kefiranofaciens*) [20].

Дальнейшее развитие метода ПЦР привело к созданию его модификаций, в частности количественной ПЦР (qPCR), которая обеспечивает не только факт обнаружения, но и оценку численности целевых микроорганизмов. Так, был разработан метод real-time ПЦР с зондом для *L. kefiranofaciens* – важнейшего бактериального вида, входящего в состав кефирных зёрен – который показал 100% специфичность и чувствительность и позволил отличить кефир от других ферментированных молочных продуктов. Этот вид является индикатором подлинности, поскольку участвует в формировании кефирных зёрен и синтезе полисахарида кефирана [21].

Одним из наиболее распространённых форматов qPCR является методика TaqMan, основанная на использовании флуоресцентных зондов, что обеспечивает высокую специфичность детекции. В свою очередь, применение нескольких TaqMan-зондов с разными флуорофорами позволяет реализовать формат мультиплексной qPCR, когда в одной реакции можно одновременно определять несколько видов микроорганизмов. Так, данная методика была успешно использована для одновременного обнаружения и подсчёта сразу 11 наиболее распространённых бактерий и дрожжей, входящих в состав кефира [17]. Такой подход подтвердил высокую эффективность мультиплексной qPCR для быстрого выявления основных компонентов микробиоты кефира.

Метод секвенирования ампликонов гена 16S рРНК стал революционным для изучения бактериального сообщества кефира. Он позволяет идентифицировать большинство бактерий до уровня рода или вида по уникальным участкам 16S-рРНК. В отличие от узконаправленной ПЦР, метабаркодирование даёт целостный таксономический профиль всей бактериальной части микро-

биоты. Первые исследования с применением высокопроизводительного секвенирования подтвердили огромное видовое разнообразие кефирных культур: суммарно выявлено свыше 50 видов микроорганизмов в различных образцах молочного кефира [22]. Сравнительный анализ образцов кефира, проведённый в 2022 году, выявил различия в доминирующих видах: для напитков на заквасках прямого внесения характерен *Lactococcus lactis*, тогда как для традиционного кефира - *Lactobacillus kefiranofaciens* [23]. Эти данные подтверждают, что 16S-секвенирование может служить надёжным инструментом для дифференциации аутентичного кефира и продуктов, приготовленных с использованием заквасок прямого внесения

Секвенирование ITS-регионов

Эукариотическая микробиота кефира и кефирных зёрен представлена дрожжами, и для обеспечения контроля подлинности необходимо учитывать их таксономический состав, не выявляемый анализом 16S. Для этой цели применяется секвенирование внутренних транскрибируемых спейсеров рибосомной ДНК (ITS-регионов) - общепринятый молекулярный метод баркодирования грибов и дрожжей. Одно из первых полноценных высокопроизводительных анализов дрожжевого сообщества кефира был проведён Marsh., et.al. (2013), было применено параллельное секвенирование бактериального гена 16S и грибкового ITS1 для 25 образцов. Было установлено, что в грибковых популяциях кефира преобладают рода *Kazachstania*, *Kluyveromyces* и *Naumovozyma* [24]. Дрожжевой профиль служит дополнительным критерием подлинности: аутентичный кефир обычно содержит богатое сообщество дрожжей, тогда как в заквасках прямого внесения дрожжевая компонента может быть ограничена одним-двумя штаммами либо вообще отсутствовать.

Метагеномика (shotgun-секвенирование всего метагенома)

Метагеномное секвенирование (shotgun sequencing) представляет следующий этап развития методов анализа микробиоты кефира. В отличие от таргетных подходов, shotgun-метагеномика стремится секвенировать всю ДНК сообщества, что открывает два важных преимущества: во-первых, захватываются сразу все домены жизни (бактерии, археи, эукариоты, вирусы); во-вторых, наряду с таксономическим составом можно одновременно получить функциональный профиль – набор генов и метаболических путей, присутствующих в микробном сообществе. Для контроля подлинности кефира - это перспективно, поскольку помимо установления видового состава позволяет оценить, соответствует ли функциональный потенциал продукта традиционному. Например, метагеномика выявляет гены синтеза кефирана, пути метаболизма лактозы, образование ароматических соединений и т.д., характерные для кефира. Так, например, метагеномный анализ применялся в исследовании динамики микробного сообщества кефира. Было определено, что в процессе ферментации происходит функциональная дифференциация ролей между участниками консорциума: *L. kefiranofaciens* обеспечивал раннюю активацию углеводного обмена и продукцию текстурообразующих полисахаридов, *L. mesenteroides* преобладал на поздних стадиях, ассоциируясь с ароматогенезом на основе аминокислот, *Acetobacter pasteurianus* участвовал в окислении этанола и подкислении среды,

а *S. cerevisiae* был вовлечён в образование спиртов и эфиров, формирующих фруктовые ноты [25].

Проблема разграничения аутентичного кефира и продуктов, приготовленных на заквасках прямого внесения, остаётся актуальной как для науки, так и для производителей, и контролирующих органов. Традиционные микробиологические показатели позволяют выявлять лишь косвенные признаки подлинности и не обеспечивают надёжной дифференциации. В то же время молекулярно-генетические методы - ПЦР, секвенирование 16S и ITS-регионов, а также метагеномные подходы открывают возможность для создания системы паспортизации заквасок. Такая система будет гарантировать потребителю соответствие продукта заявленной технологии: традиционный кефир подтверждается наличием кефирных зёрен в качестве закваски, тогда как напитки, приготовленные на основе заквасок прямого внесения, могут быть охарактеризованы и паспортизованы, но не классифицированы как кефир. Реализация подобных подходов позволит минимизировать риски фальсификации и сохранить кефир как уникальный пробиотический продукт.

Литература

1. The global kefir market is growing at a rate of 6.8% per year [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://dairynews.today/kz/news/the-global-kefir-market-is-growing-at-a-rate-of-6-8-per-year.html> (дата обращения: 10.09.2025).
2. Kefir Market Size, Industry Analysis Report [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.gminsights.com/ru/industry-analysis/kefir-market> (дата обращения: 10.09.2025).
3. Azizi N. F., Kumar M. R., Yeap S. K., Abdullah J. O., Khalid M., Omar A. R., Osman M. A., Mortadza S. A. S., Alitheen N. B. Kefir and Its Biological Activities // Foods. 2021. Vol. 10 (6). P. 1210. DOI: 10.3390/foods10061210. PMID: 34071977; PMCID: PMC8226494.
4. Ganatsios V., Nigam P., Plessas S., Terpou A. Kefir as a Functional Beverage Gaining Momentum towards Its Health Promoting Attributes // Beverages. 2021. Vol. 7. P. 48. DOI: 10.3390/beverages7030048.
5. Характеристика и функциональные свойства лактобацилл, выделенных из кефирных грибков / А. В. Бегунова, О. С. Савинова, К. В. Моисеенко [и др.] // Прикладная биохимия и микробиология. 2021. Т. 57, № 4. С. 362-373. DOI: 10.31857/S0555109921040036. EDN CNPPRF.
6. Рожкова И.В., Бегунова А.В. Пробиотические микроорганизмы как фактор повышения здоровья // Молочная промышленность. 2020. № 7. С. 38-39. DOI: 10.31515/1019-8946-2020-06-38-39. EDN CSIWXX.
7. Рожкова И.В. Кефир - пробиотик // Актуальные вопросы молочной промышленности, межотраслевые технологии и системы управления качеством. 2020. Т. 1, № 1(1). С. 451-456. DOI: 10.37442/978-5-6043854-1-8-2020-1-451-456. EDN VRYYSR.

8. Потенциал молочнокислых бактерий в снижении уровня холестерина / А.В. Бегунова, И.В. Рожкова, Т.И. Ширшова, Ю.И. Крысанова // Пищевая промышленность. 2020. № 11. С. 12-15. DOI: 10.24411/0235-2486-2020-10119. EDN NRILMV.
9. Farnworth E.R. Handbook of Fermented Functional Foods. Boca Raton: CRC Press, 2003. 456 p.
10. Kotova I.B., Chernyshova I.N., Konina I. V. et al. Kefir grains as a natural starter culture: structure, composition, and properties // Microbiology. 2016. Vol. 85, No. 3. P. 306–315.
11. Dairy Processing Handbook [Текст] / Tetra Pak International S.A. – Lund: Tetra Pak International S.A., 2025. 468 с. Режим доступа: [https:// dairyprocessinghandbook.tetrapak.com/chapter/fermented-milk-products](https://dairyprocessinghandbook.tetrapak.com/chapter/fermented-milk-products) (дата обращения: 11.09.2025).
12. De Oliveira Leite A.M., Miguel M.A., Peixoto R S., Rosado A.S., Silva J.T., Paschoalin V.M. Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage // Braz. J. Microbiol. 2013. Vol. 44 (2). P. 341–349. DOI: 10.1590/S1517-83822013000200001. PMID: 24294220; PMCID: PMC3833126.
13. Kazou M., Grafakou A., Tsakalidou E., Georgalaki M. Zooming Into the Microbiota of Home-Made and Industrial Kefir Produced in Greece Using Classical Microbiological and Amplicon-Based Metagenomics Analyses // Frontiers in Microbiology. 2021. Vol. 12. DOI: 10.3389/fmicb.2021.621069. ISSN 1664-302X.
14. Ströher J., Freitas A., Salazar M., da Silva L., Bresciani L., Flôres S., Malheiros P. A Global Review of Geographical Diversity of Kefir Microbiome // Fermentation. 2025. Vol. 11. P. 1–23. DOI: 10.3390/fermentation11030150.
15. ГОСТ 31454-2012. Кефир. Технические условия. Введ. 2013-07-01. М.: Стандартинформ, 2013. 12 с.
16. ТР ТС 033/2013. О безопасности молока и молочной продукции: Технический регламент Таможенного союза: утв. Решением Комиссии Таможенного союза от 09.10.2013 № 67. М.: Стандартинформ, 2014. 46 с.
17. Кефир: как отличить натуральный продукт от фальсификата [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://milknews.ru/index/molochnye-produkty/kefir-falsifikat.html> (дата обращения: 10.09.2025).
18. Avila-Reyes S.V., Márquez-Morales C.E., Moreno-León G.R., Jiménez-Aparicio A.R., Arenas-Ocampo M.L., Solorza-Feria J., García-Armenta E., Villalobos-Espinosa J. C. Comparative Analysis of Fermentation Conditions on the Increase of Biomass and Morphology of Milk Kefir Grains // Appl. Sci. 2022. Vol. 12. P. 2459. DOI: 10.3390/app12052459.
19. Kim D.H., Chon J.W., Kim H.S., Yim J.H., Kim H., Seo K.H. Rapid detection of *Lactobacillus kefiranoformis* in kefir grain and kefir milk using newly developed real-time PCR // J. Food Prot. 2015. Vol. 78 (4). P. 855–858. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-14-329. PMID: 25836417.
20. Ninane V., Berben G., Romnee J.-M., Oger R. Variability of the microbial abundance of a kefir grain starter cultivated in partially controlled conditions // Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement. 2005. Vol. 9. P. 5–12.

21. Nejati F., Junne S., Kurreck J., Neubauer P. Quantification of major bacteria and yeast species in kefir consortia by multiplex TaqMan qPCR // *Frontiers in Microbiology*. 2020. Vol. 11. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01291.
22. Bourrie B.C. T., Willing B.P., Cotter P.D. The microbiota and health promoting characteristics of the fermented beverage kefir // *Frontiers in Microbiology*. 2016. Vol. 7. P. 647. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00647.
23. Nejati F., Capitain C. C., Krause J.L., Kang G.-U., Riedel R., Chang H.-D., Kurreck J., Junne S., Weller P., Neubauer P. Traditional Grain-Based vs. Commercial Milk Kefirs, How Different Are They? // *Appl. Sci*. 2022. Vol. 12. P. 3838. DOI: 10.3390/app12083838.
24. Marsh A J., O’Sullivan O., Hill C., Ross R.P., Cotter P.D. Sequencing-Based Analysis of the Bacterial and Fungal Composition of Kefir Grains and Milks from Multiple Sources // *PLOS ONE*. 2013. Vol. 8 (7). P. e69371. DOI: 10.1371/journal.pone.0069371.
25. Walsh A. M., Crispie F., Kilcawley K., O’Sullivan O., O’Sullivan M. G., Claesson M. J., Cotter P. D. Microbial Succession and Flavor Production in the Fermented Dairy Beverage Kefir // *mSystems*. 2016. Vol. 1 (5). P. e00052-16. DOI: 10.1128/mSystems.00052-16.