

# ВИВЧЕННЯ РОСТУ МІКРООРГАНІЗМІВ ПРИРОДНОГО КЕФІРУ НА РІЗНИХ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

Хабленко А.Д.<sup>1</sup>, Яловенко О.І.<sup>1</sup>, Потемська О.І.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> КШ ім. Ігоря Сікорського, khablenko@gmail.com

<sup>2</sup> Інститут продовольчих ресурсів НААН, вул. Є. Сверстюка, Київ, 02660

**Вступ.** Симбіотичні відносини між різними видами організмів зустрічаються у представників всіх царств живих істот. Однією з найпоширеніших причин утворення тісних харчових зв'язків між ними є надходження і утилізація різних поживних речовин, що надходять до оточуючого середовища. Вивчення різних симбіотичних відносин між організмами є предметом декількох біологічних дисциплін, серед яких є біотехнологія, яка спеціалізується на отриманні корисних для людини сполук на основі симбіозу між грибами і бактеріями, мікродоростями і ціанобактеріями, тощо [1]. Найбільш розповсюдженими симбіотичними відносинами характеризуються мікроорганізми різних родів і видів, наприклад, досить багатий на розмаїття мікробіом людини, який активно досліджується останні десятиліття. Іншими мікробними симбіозами, які активно використовуються у харчовій промисловості є чайний гриб, кефірний грибок або кефірні зерна [2].

Основною проблемою при дослідженні мікробних симбіозів, особливо у випадку кефірних зерен, є складність відтворення і створення штучного консорціуму, що обумовлено особливостями будови і видовою різноманітністю мікробіоти симбіозу [3]. Причиною проведення численних досліджень, які присвячені створенню штучного кефірного грибка, є особливі пробіотичні властивості готового природного кефіру. На сьогодні відсутні позитивні результати, що стосуються отримання штучного кефірного грибка, а більшість робіт стосується оптимізації умов культивування кефірних зерен [4]. При проведенні таких досліджень часто використовують різні підходи, зокрема: використання різних середовищ [5], режимів культивування [5, 6] та підбір концентрацій кефірного грибка [5, 7].

Метою роботи є мікробіологічна оцінка готового природного кефіру, отриманого при додаванні різних концентрацій закваски, та ріст мікроорганізмів кефірного грибка на різних твердих поживних середовищах.

**Матеріали і методи.** Основним об'єктом дослідження був молочний кефірний грибок з Колекції культур відділу біотехнології Інституту продовольчих ресурсів НААН України. Кефірний грибок відновлювали за стандартною методикою, а саме промивали стерильним фізіологічним розчином і молоком, після чого культивували у пастеризованому молоці за температури 25°C протягом 24 годин. З метою оцінки впливу концентрацій закваски на кефір було підібрано наступні розведення кефірного грибка: у 10, у 20 та у 25 разів. Для отримання кефіру відновлені кефірні зерна культивували у пастеризованому молоці за аналогічних умов. Оцінку мікробіологічного профілю проводили шляхом відбору зразків при внесенні закваски у молоко (0 годин) та після культивування (24 години), після чого зроблено посіви серійних розведень на наступні поживні середовища: Сабуро агар (СА), гідролізатний агар (ГА), МРС,

які приготовані згідно з [8]. Обрані середовища є сприятливими для росту більшості притаманних для кефірного грибка мікроорганізмів: дріжджів та молочнокислих бактерій (МКБ). Контрольними значеннями обрано розведення у 10 разів, яке найчастіше використовується для отримання природного кефіру. Приріст (GR) розраховували за формулою, наведеною нижче:

$$GR = \frac{\lg(N_{24 \text{ год}}) - \lg(N_{0 \text{ год}})}{\lg(N_{0 \text{ год}})} \cdot 100\%$$

де,  $\lg(N_{0 \text{ год}})$  – кількість КУО/см<sup>3</sup> у логарифмічних одиницях при внесенні закваски;

$\lg(N_{24 \text{ год}})$  – кількість КУО/см<sup>3</sup> у логарифмічних одиницях після 24 годин культивування.

Достовірними вважали результати, якщо значення  $\alpha > 0,95$ . На побудованих графіках зазначені статистично значущі результати для  $p < 0,05$  – \*;  $p < 0,01$  – \*\*;  $p < 0,001$  – \*\*\*.

**Результати і обговорення.** Отримані нами дані свідчать про вплив різних концентрацій закваски на кількість мікроорганізмів у кефірі, що наведено на рис. 1.

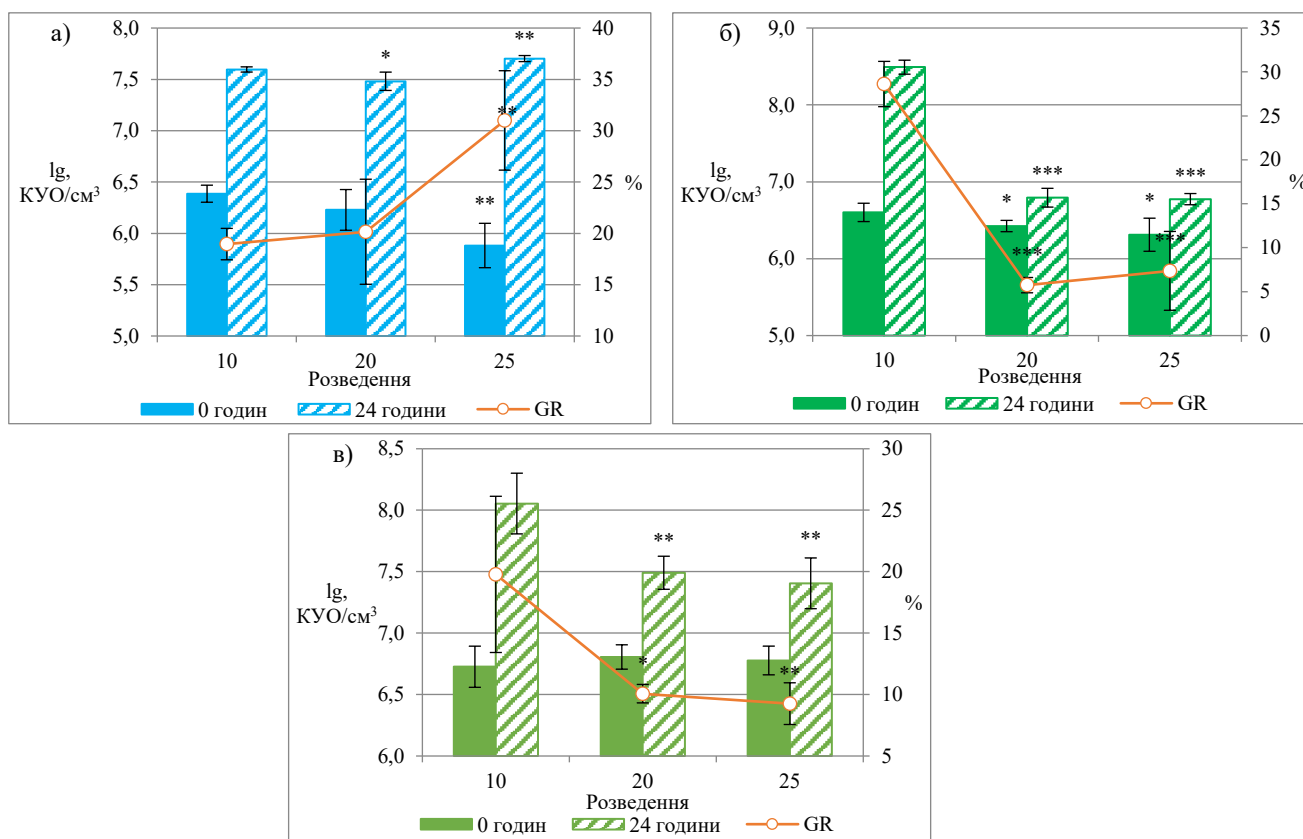


Рис. 1. Результати вирощування зразків кефіру та приріст мікроорганізмів кефірного грибка на різних середовищах: а) СА; б) МРС; в) ГА

Як видно з наведених графіків, на середовищі СА спостерігається найбільший приріст кількості клітин для варіанту зразка, розведення у 25 разів (на  $31,0 \pm 4,8\%$ ), однак показник логарифму КУО/см<sup>3</sup> є приблизно однаковим для усіх розведень, хоча і наявна статистична значущість порівняно з контролем (розведення у 10 разів). Після 24-годинного вирощування найбільше значення

логарифму КУО/см<sup>3</sup> виявлено на середовищі СА і становило 7,7±0,1. Такі результати можуть бути обумовленими наявністю великої кількості глюкози у середовищі та сприятливими умовами для росту дріжджів кефірного грибка.

Порівняно з СА, на середовищі МРС і ГА спостерігався більший приріст у одиницях КУО/см<sup>3</sup>. Так, ріст склав до 8,5±0,1 та 8,1±0,2 КУО/см<sup>3</sup> для розведення у 10 разів на середовищі МРС і ГА відповідно. Для розведень 20 і 25 максимальне значення для МРС складало до 6,8±0,1 КУО/см<sup>3</sup>. У той час як на ГА ріст склав до 7,5±0,2 КУО/см<sup>3</sup> для розведень 20 і 25. Такий бурхливий ріст може бути пов'язаним з високою поживністю обраних середовищ та їх оптимальним складом для МКБ, які представляють собою найбільшу частку мікроорганізмів кефірного грибка (до 90%) [9]. Окрім цього, спостерігається приріст мікроорганізмів до 28,6±1,5% та 19,8±3,4% для середовищ МРС і ГА відповідно при вирощуванні зразків з розведенням у 10 разів. Отже, цілком можна зробити висновок про те, що середовища МРС і ГА є більш сприятливими для дослідження мікроорганізмів кефірного грибка.

**Висновки.** Отримані у дослідженні результати свідчать про різний ріст мікроорганізмів кефірного грибка на обраних стандартних середовищах. Окрім цього, підтверджено вплив обраних розведень закваски на вміст мікроорганізмів у готовому кефірі.

#### **Список використаної літератури:**

1. Santos C. A., Reis A. Microalgal symbiosis in biotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2014. Т. 98, № 13. С. 5839–5846.
2. Tailoring the Optimized Fermentation Conditions of SCOBY-Based Membranes and Milk Kefir Grains to Promote Various Functional Properties / M. Pihurov та ін. *Foods*. 2022. Т. 11, № 19. С. 3107.
3. Goršek A., Tramšek M. Kefir grains production—An approach for volume optimization of two-stage bioreactor system. *Biochemical Engineering Journal*. 2008. Т. 42, № 2. С. 153–158.
4. Traditional Grain-Based vs. Commercial Milk Kefirs, How Different Are They? / F. Nejati та ін. *Applied Sciences*. 2022. Т. 12, № 8. С. 3838.
5. Garrote G. L., Abraham A. G., De Antoni G. L. Characteristics of kefir prepared with different grain[ratio]milk ratios. *Journal of dairy research*. 1998. Т. 65, № 1. С. 149–154.
6. Influence of Different Growth Conditions on the Kefir Grains Production, used in the Kefiran Synthesis / C. R. Pop та ін. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology*. 2014. Т. 71, № 2.
7. Margareth L. L., Nurwantoro N., Rizqiyati H. Effect of Different Kefir Grain Starter Concentration on Yield, pH, CO<sub>2</sub> Content, and Organoleptic Properties of Buffalo Milk Kefir. *Journal of Applied Food Technology*. 2020. Т. 7, № 1.
8. Інструкція щодо організації виробничого мікробіологічного контролю на підприємствах молочної промисловості. Київ : ННЦ «ІАЕ», 2014. 372 с.
9. Nejati F., Junne S., Neubauer P. A Big World in Small Grain: A Review of Natural Milk Kefir Starters. *Microorganisms*. 2020. Т. 8, № 2. С. 192.