

Бюджетное учреждение дополнительного образования
«Ики-Бурульский Центр дополнительного образования»

Объединение «Юный эколог»

Всероссийский конкурс «Юннат»

Номинация «Зеленые» технологии и стартапы»

**«Применение биомассы тибетского грибка для
создания домашнего кефира и определение
качества полученного продукта»**

Подготовила:

Манкирова Даяна Мергеновна, обучающаяся БУ ДО
«Ики-Бурульского ЦДО», 8 класс.

Руководители:

Очирова Кеема Сергеевна, педагог дополнительного
образования БУ ДО «Ики-Бурульского ЦДО»

Санджиева Елена Сарановна, педагог дополнительного
образования БУ ДО «Ики-Бурульского ЦДО»

Ики-Бурул, 2020

Аннотация

В работе предложены результаты исследования кефиров, полученных из 4 видов молока с использованием тибетского грибка. Установлена динамика роста тибетского грибка в 4-х видах молока. Проведена оценка органолептических и микробиологических характеристик полученных кефиров, а также определен их кислотно-основной показатель. Работа изложена на 30 страницах, в ней представлены 5 таблиц, 14 рисунков, 1 диаграмма, применены 5 методов исследования и даны ссылки на 10 литературных источников. Практическая значимость работы отражена в выводах – качество исследуемых кефиров и характеристики тибетского грибка напрямую отражает качество того или иного вида молока.

Содержание.

	стр.
Введение.	4
Краткий обзор литературы по теме исследования.	6
Материалы и методы	8
Практическая часть.	10
Результаты реализации проекта.	14
Заключение.	17
Выводы.	19
Реализация проекта.	20
Список использованной литературы и Интернет-ресурсов.	21

Введение

Социальная значимость работы: Молоко является одним из основных продуктов питания и обладает огромным количеством полезных свойств. Но, в настоящее время производители предлагают нам множество марок молока, которые различаются как по ценам и срокам годности, так и по вкусу. О качестве и пользе той или иной марки молока простым покупателям судить очень сложно. Тем не менее, известно, что ряд магазинных марок молока практически не скисает, не портится долгое время, но в итоге протухает.

Так же известно, что качество кефира напрямую зависит от качества молока, используемого для сквашивания. В настоящей работе мы решили установить качество разных марок молока с помощью тибетского грибка. Тибетский грибок является симбиотической группой микроорганизмов, которые применяются для приготовления кефира. Поэтому, результаты исследования полученного кефира будут свидетельствовать о качестве молока, использованного для жизнедеятельности грибка.

В связи с вышесказанным, **цель** нашей работы:

Установить качество кефиров, полученных из разных видов молока с использованием тибетского грибка.

Задачи:

1. приготовить кефир, определить динамику роста тибетского грибка.
2. определить основные характеристики полученного кефира.

Гипотеза исследования:

При использовании тибетского грибка можно получить качественный кефир как из домашнего молока, так из магазинного молока.

Место и сроки проведения работы: БУ ДО «Ики-Бурульский ЦДО», 2020 год.

Бизнес - план реализации проекта:

1. Подготовительный этап (2020 год). Работа с литературными источниками. Взятие проб домашнего молока от разных коров, разведение тибетского грибка, закупка химических реактивов, посуды.
2. Основной этап (2020 – 2021 года). Проведение экспериментальной части. Определение качества полученных кефиров. Оценка материальных затрат. Оценка полученных результатов.
3. Заключительный этап (2022 – 2023 года). Публикация результатов. Привлечение населения для заказов на поставку домашнего кефира.

Механизм реализации проекта и схема управления проектом:

Эффективное достижение цели проекта отражено в ясном механизме действий каждого участника, в использовании как современных, так и базовых методов исследований и технологий. Успешное управление проектом основано на четко спланированной организации и координации всех этапов, обоснованным и результативным использованием как человеческих, так и материальных ресурсов, а также в обеспечении лаборатории с необходимым оборудованием для проведения химических исследований.

Критерии оценки эффективности проекта:

Эффективность любого проекта напрямую связана со степенью и сроками его окупаемости. Большинство жителей Калмыкии покупают магазинную молочную продукцию. Наш проект имеет низкую себестоимости, высокую эффективность и долговечность, благодаря способности к самостоятельному росту тибетского грибка. Если людям разъяснить преимущества домашнего кефира, то его будут заказывать и употреблять. Но, кроме того оценивать наш проект можно и по следующим критериям:

- вовлечение в исследование различных марок магазинного молока Калмыкии;
- качественный анализ полученных видов кефира;
- эффективная работа с потенциальными покупателями;
- создание методических указаний по изготовлению, применению тибетского грибка;
- определение экономии материальных средств для покупателей домашнего кефира.

Предполагаемые конечные результаты, потенциалы развития проекта, долгосрочный эффект:

В конечных результатах мы предполагаем полную окупаемость данного проекта, так как создание и реализация молочной продукции всегда было выгодной операцией. Получение положительных предварительных результатов позволяет предположить об успешности будущих исследований.

Краткий обзор литературы по теме исследования

1. Применение Тибетского гриба.

Молочный гриб представляет собой шарообразное тело белого цвета диаметром 1,5—3 мм, в зрелом состоянии достигает 4 см в диаметре.

Кефирный (Тибетский или молочный) гриб — симбиотическая группа бактерий и микроорганизмов рода Зооглея, используемая для получения молочного продукта, известного как кефир. Благоприятно влияет на здоровье человека, является профилактическим и даже лечебным средством (1).

История появления грибка связана с множеством легенд и полулегендарных сказаний. Считается, что он известен уже не одну сотню лет, однако в Европе о нем узнали, а затем стали применять в целебных целях лишь с середины XIX в. В России он появился, вероятнее всего, тогда же. Говорят, что грибок привез из Тибета польский профессор. Известно, что им интересовались в семействе Рерихов, которые предприняли немало усилий к тому, чтобы понять главные секреты тибетской медицины. С другой стороны, существуют версии, что Тибетский гриб родом из Болгарии, так же, как и с Кавказских гор (2).

В настоящее время накоплено немало свидетельств, в том числе и научных, о пользе получаемого из тибетского молочного гриба напитка. Кефир, получаемый из гриба богат витаминами А, D, В₁₅ В₂, В₆, В₁₂ и ниацина (РР) в него входят кальций, железо, йод, цинк, фолиевая кислота. Их содержание в 100 г напитка варьирует от 1/20 до 1/10 суточной потребности организма взрослого человека. К этому добавляются лакто бактерии и дрожжеподобные микроорганизмы, а также спирт, ферменты, кислоты, белки и полисахариды (3).

2. Выращивание тибетского молочного гриба

В баночку налить молоко – некислое, комнатной температуры. Положите туда гриб. Пропорции здесь следующие: берется гриб из расчета либо 2 ч. ложки на стакан молока, либо 2 ст. ложки на 0,3–0,5 л. Закрывать банку свернутой в четыре слоя марлей. Поместить ее в темное место, чтобы на нее не попадали прямые солнечные лучи. Оставить сквашиваться в таком состоянии на сутки.

Молоко сквашивается примерно через 20 часов. Иногда процесс несколько затягивается. Бывает, что искомый продукт образуется лишь на третьи сутки. Готовым он будет, когда наверху появится густой слой, в котором находится грибок, а внизу – своеобразная простокваша. Процедуру сквашивания следует повторять каждые сутки, если у вас получилось все сказанное выше. После сквашивания грибок следует промывать проточной водой. Промыв гроздь гриба, вы опускаете его в банку и снова заливаете свежим молоком. Через день напиток будет опять готов. Если молочный гриб не промывать и не заливать вновь молоком, он не будет размножаться. Более того, изменится его цвет – он станет

коричневым. Не проявятся и его положительные свойства. Потемнение означает, что вы не очень стараетесь за ним ухаживать. Здоровый грибок – белого цвета (цвет молока, творога). В случае правильного ухода масса тибетского гриба увеличивается вдвое через 17 дней. Принимать напиток рекомендуется 1–2 раза в день максимуму по стакану (4).

3. Бактерии, входящие в состав тибетского гриба.

Кефирный гриб является симбиозом более десяти различных микроорганизмов, растущих и размножающихся вместе. В состав гриба входят: лактобактерии, уксуснокислые бактерии, молочные дрожжи.

Кефир, получающийся в результате жизнедеятельности кефирного гриба, является продуктом одновременно и молочнокислого, и спиртового брожения.

Молочнокислые бактерии подразделяются на гомоферментативные (*Lactobacillus plantarum* (Рис. 3.), *Streptococcus lactis*) и гетероферментативные (*Lactobacillus brevis*). Первые синтезируют только молочную кислоту. Вторые – молочную кислоту, уксусную кислоту и углекислый газ. Гетероферментативные бактерии менее «экономны» по сравнению с гомоферментативными, поскольку в какой-то мере они увеличивают потери питательных веществ путем газообразования. С другой стороны, некоторые штаммы гетероферментативных бактерий синтезируют продукты, обладающие высокой активностью против нежелательных микроорганизмов, например, против гнилостных бактерий. Показатели рН, при которых возможны процессы их жизнедеятельности, охватывают диапазон от 3,6 (для палочковых форм) и 4 (для кокковых форм) до 5,5. Наиболее благоприятный уровень рН – около 4,1 (5).

Дрожжи объединяют различные одноклеточные грибки. Большая часть дрожжей, входящих в состав эпифитных микроорганизмов, являются облигатными аэробами, но встречаются и факультативные формы. Дрожжи хорошо сохраняют свою активность в кислой среде и в качестве субстрата используют углеводы.

Уксуснокислые бактерии являются облигатными аэробами. Это микроорганизмы, для жизнедеятельности которых требуется свободный кислород. Облигатные, или строгие, аэробы прекращают свой рост и развитие при отсутствии свободного кислорода. Свое название — это семейство получило из-за того, что его представители получают энергию за счет окисления этанола до уксусной кислоты. Этанол – это тот же этиловый или винный спирт, в народе – алкоголь, а чаще просто «спирт» (6).

Материалы и методы

Материалы исследования (Рис. 1):

1. Молоко домашнее.
2. Молоко магазинное «Молочный родник», в мягкой упаковке, срок годности 21 сутки. ООО «Пятигорский молочный комбинат», г. Пятигорск.
3. Молоко магазинное «Питьевое стерилизованное» в мягкой упаковке, срок годности 45 суток. ООО «Молочный комбинат Ставропольский», г. Ставрополь.
4. Молоко магазинное «Любаня», в упаковке «тетрапак», срок годности 6 месяцев. ООО «МолПромПродукт», г. Кропоткин.
5. Тибетский молочный гриб.



Рис. 1. Материалы исследования.

Методы исследования:

1. Получение кефира с помощью тибетского грибка. Определение изменения массы грибка. Определение объема полученного кефира (7).
2. Органолептические показатели кефира (ГОСТ 31454-2012) (8).
3. Определение pH среды кефира (ГОСТ 3624) (9).
4. Метод культивации бактерий на питательной среде агар-агар (ГОСТ 10444.11-89) (10) (Рис. 2).
5. Определение доли молочнокислых бактерий в кефире (методика ГОСТ 10444.11) (11).
6. Определение доли дрожжей в кефире (ГОСТ 10444.12) (12).



Рис. 2. Культивация бактерий на питательной среде.

Практическая часть.

1. Получение кефира с помощью тибетского грибка. Определение изменения массы грибка. Определение объема полученного кефира.

1. Тибетский гриб промываем проточной водой. К 200 грамм молока добавляет 30 грамм промытого тибетского грибка. Закрываем емкость марлей, оставляем на 24 часа при комнатной температуре на сутки.
2. Полученный кефир пропускаем через ситечко, определяем его объем. В ситечке остается тибетский гриб, промываем его, взвешиваем.
3. Полученные результаты заносим в таблицу (Табл. 1.).



Рис. 3. Приготовление кефира с помощью тибетского грибка.

2. Органолептические показатели кефира.

Определение внешнего вида и цвета осуществляют визуально, консистенции, вкуса и запаха проводят органолептически и характеризуют в соответствии с требованиями, представленными в таблице (Табл. 2). Результаты заносим в таблицу 3 (Табл. 3).

Таблица 2. Органолептические характеристики кефира по требованиям ГОСТ.

Наименование показателя	Характеристика
Вкус и запах	Чистые кисломолочные, без посторонних привкусов и запахов. Вкус слегка острый, допускается дрожжевой привкус
Цвет	Молочно-белый, равномерный по всей массе. Темно-кремовый.
Консистенция и внешний вид	Однородная, с нарушенным или ненарушенным сгустком. Допускается газообразование, вызванное действием микрофлоры кефирных грибков

3. Определение pH среды кефира.

Согласно требованиям ГОСТ, кислотность кефира должна быть $\text{pH} = 4,0 - 4,6$. Для данного этапа была использована универсальная индикаторная бумажка и все кефиры. Изменение цвета индикаторной бумажки соотносили с показателями шкалы pH. Результаты заносим в таблицу 4 (Табл. 4).

4. Метод выращивания бактерий на питательной среде агар-агар (Рис. 4, 5).

1. Изначально мы приготовили питательную среду для бактерий агар-агар. Для этого развели сухой порошок агар в горячей воде, разлили агар по пронумерованным чашкам Петри. Когда агар остыл, он приобрел желеобразную консистенцию, и стал полностью готов для дальнейшего использования.
2. На готовый агар с помощью дозаторной пипетки нанесли 1 мл кефира.
3. Чашки Петри с агар-агаром и перенесенным кефиром помещаем в термостат на 24 часа при температуре 37°C .



Рис. 4, 5. Выращивание бактерий на питательной среде.

5. Определение доли молочнокислых бактерий в кефире.

1. Выращенные в чашках Петри (по пункту 3) колонии бактерий и дрожжей окрашивают и подсчитают. В кефире можно обнаружить молочнокислые, уксуснокислые бактерии и дрожжи (Рис. 6).

2. Кисломолочные бактерии являются грамм-положительными бактериями. Поэтому, добавление красителя генцианвиолета, они окрашиваются в сине-фиолетовой цвет. Уксуснокислые бактерии, напротив, являются грамм-отрицательными, поэтому, при использовании того же красителя, они приобретают красную окраску.

3. Подсчет колоний бактерий проводился под контролем врача-бактериолога Ики-Бурульской ЦРБ. Полученные результаты заносим в таблицу 5 (Табл. 5).



Рис. 6. Выращенные колонии микроорганизмов.

6. Определение доли дрожжей в кефире.

1. На предметное стекло наносят тонкий мазок кефира, добавляют метиленовый синий краситель, который придает дрожжам сине-голубой цвет.
2. Подсчет колоний дрожжей проводился с помощью микроскопа, под контролем врача-бактериолога Ики-Бурульской ЦРБ. Полученные результаты заносим в таблицу 5 (Табл. 5) (Рис. 7).



Рис. 7. Подсчет колоний дрожжей.

Результаты реализации проекта

1. Получение кефира с помощью тибетского грибка. Определение изменения массы грибка. Определение объема полученного кефира.

Исходная масса грибка 30 гр.

Таблица 1. Определение изменения массы тибетского грибка и объема полученного кефира (Рис. 8, 9).

молоко	Масса грибка через сутки (г)	Консистенция (1 - 4)
№ 1. Домашнее	34	4
№ 2. Молочный родник	32	3
№ 3. Питьевое	30	1
№ 4. Любаня	30	1



Рис. 8, 9. Определение массы тибетского грибка.

2. Органолептические показатели полученного кефира.



Рис. 10, 11. Внешний вид кефиров.

Таблица 3. Органолептические характеристики кефира (Рис. 10, 11).

Молоко (среднее значение)	Вкус (1 - 4)	Запах (1 - 4)	Цвет (1 - 4)	Консистенция (1 - 4)
№ 1. Домашнее	приятно кисловатый 4	ароматный, характерный для кефира 4	кремово- белый 4	однородная с ненарушенным сгустком 4
№ 2. Молочный родник	приятно кисловатый 3	Очень ароматный, характерный для кефира 3	кремово- белый 4	однородная с ненарушенным сгустком 4
№ 3. Питьевое	кисловатый, с привкусом остроты 2	очень ароматный, характерный для кефира 3	Белый 3	однородная, водянистая, газы 2
№ 4. Любаня	молочный без кислинки 1	Слабый запах кефира 2	Темно- кремовый 3	однородная, водянистая 2

3. Определение pH среды кефира.

Согласно требованиям ГОСТ, наиболее идеальная кислотность свежего, однодневного кефира должна составлять pH = 4,2.

Таблица 4. Результаты показателя pH кефира (Рис. 12, 13).

Использованное молоко	pH
№ 1. Домашнее	4,3
№ 2. Молочный родник	4
№ 3. Питьевое	4,9
№ 4. Любаня	5,2

4. Определение доли молочнокислых бактерий и дрожжей в кефире (Рис. 6, 7).

Согласно требованиям ГОСТ, наиболее лучшее соотношение микроорганизмов в свежем, однодневном кефире должно быть: 63% бактерий (из них: молочнокислых – 89%, уксуснокислых – 11%), 36% дрожжей (молочные дрожжи).



Рис. 12, 13. Определение рН кефира.

Таблица 5. Содержание бактерий и дрожжей в кефире.

МОЛОКО	Число колоний в поле зрения (шт)			Доля колоний (%)		
	Молочно кислые бактерии	Уксуснокислые бактерии	Дрожжи	Молочно кислые бактерии	Уксуснокислые бактерии	Дрожжи
Домашнее 1	223	15	150	57	4	38
Молоко 2	148	21	119	50	7	40
Молоко 3	129	30	113	48	10	42
Молоко 4	86	8	115	41	4	55

Заключение.

В результате проведенных исследований можно утверждать, что домашнее молоко является наиболее благоприятным субстратом для жизнедеятельности тибетского грибка. За сутки нахождения в домашнем молоке, грибок увеличил свою массу на 4 грамма, сохранил свой внешний вид и окрас. Полученный кефир по своим характеристикам соответствует всем требованиям ГОСТ. Его органолептическая оценка и уровень кислотности приближены к идеальным. Общее число живых колоний микроорганизмов, а также их процентные соотношения позволяют судить о высоком качестве полученного продукта.

Молоко № 4 можно считать наиболее неблагоприятным субстратом для жизни тибетского грибка – грибок не только не увеличил свою массу, но и, как минимум «заболел» - потемнел, распался на мелкие части. Органолептические показатели полученного кефира можно считать очень плохими - белая водянистая жидкость, со слабым запахом. Показатель рН слишком высокий, и не соответствует стандартным требованиям. Аналогичная картина отражена и в последующих характеристиках – общее число колоний микроорганизмов очень низкое, причем половина из них – это дрожжи.

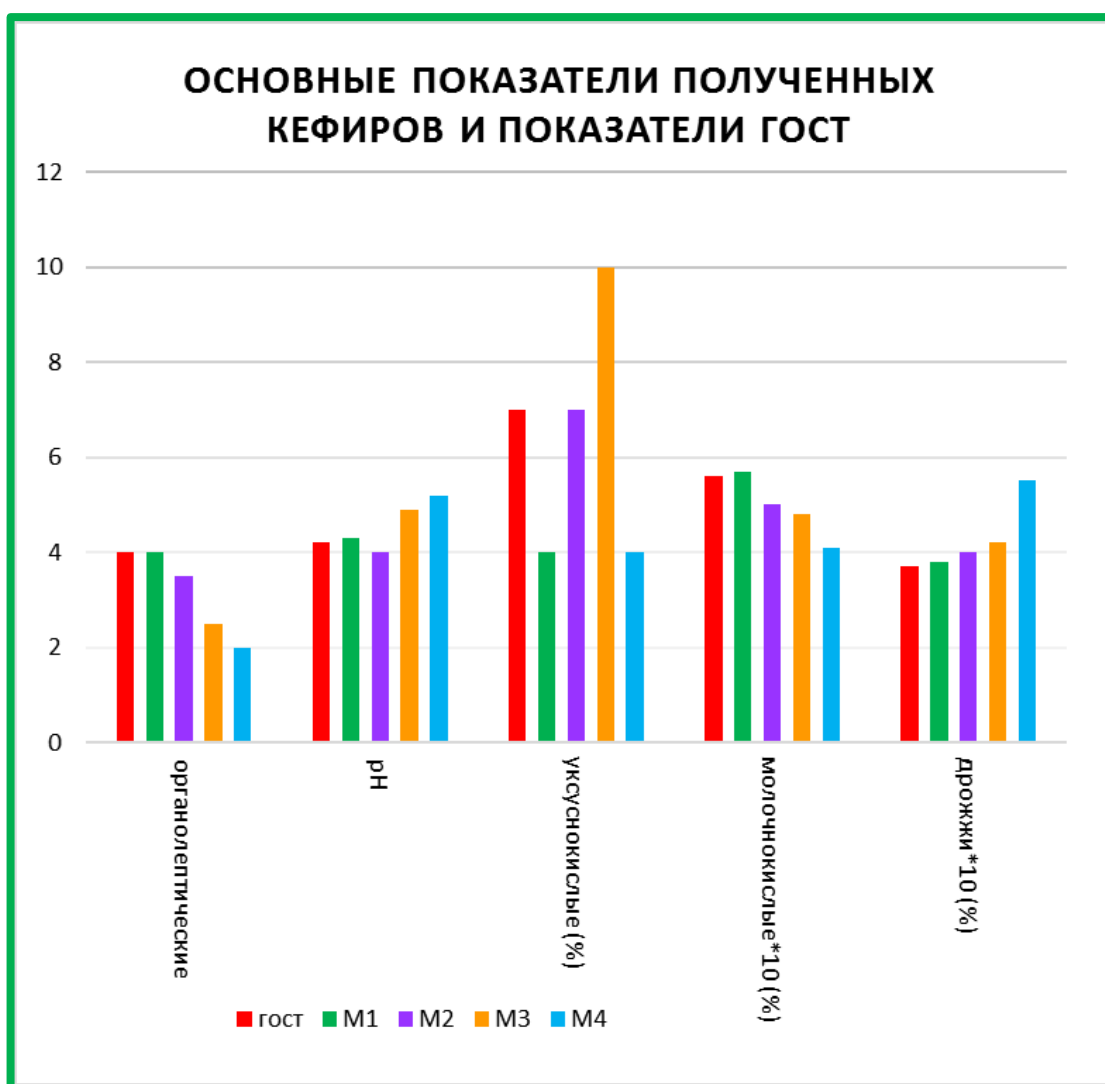
Молоко № 3, по сравнению с молоком № 4, является более лучшей средой обитания для тибетского грибка. Тем не менее, за сутки, проведенные в молоке № 3, грибок не вырос и также распался на части, но потемнение его структур менее интенсивное. Низкие органолептические характеристики кефира отличаются острым и кислым запахом, водянистостью и высоким уровнем газов. При микробиологическом анализе высокий процент был характерен для уксуснокислых бактерий и дрожжей.

Молоко № 2. Можно охарактеризовать как очень благоприятную среду для жизнедеятельности грибка – грибок увеличился на 2 грамма, не изменил свой вид. Все характеристики полученного кефира соответствуют требованиям ГОСТ и близки к идеальным показателям кефира, приготовленного из домашнего молока.

Известно, что качество кефира напрямую зависит от качества используемого молока. Из трех марок магазинного молока наиболее лучшие результаты были получены при использовании молока № 2, а самые плохие показатели – у молока № 4.

Так образом, гипотезу нашего исследования можно считать достоверной только отчасти – только одна марка магазинного молока подходит для приготовления хорошего кефира.

Диаграмма 1. Основные показатели полученных кефиров и показатели ГОСТ.



Выводы.

1. Домашнее молоко является наиболее благоприятной средой для жизнедеятельности тибетского грибка, что отражено в увеличении его массы на 10% за сутки и сохранении своей структуры. Полученный при этом кефир характеризуется следующими параметрами: органолептическая оценка 4 из 4, водородный показатель рН = 4,3 (при идеальном рН = 4,2), процентное соотношение колоний микроорганизмов 57 молочнокислых – 4 уксуснокислых – 38 молочных дрожжей (при идеальном сочетании 56 – 7 – 37).

2. Молоко № 4 (Любаня) является наиболее неблагоприятной средой для жизнедеятельности тибетского грибка, что отражено в разрушении структуры. Полученный при этом кефир характеризуется следующими параметрами: органолептическая оценка 2 из 4, водородный показатель рН = 5,2 (при идеальном рН = 4,2), процентное соотношение колоний микроорганизмов 41 молочнокислых – 4 уксуснокислых – 55 молочных дрожжей (при идеальном сочетании 56 – 7 – 37), кроме того общее число колоний – очень низкое.

3. Молоко № 2 (Молочный родник) является наиболее благоприятной средой для жизнедеятельности тибетского грибка, что отражено в увеличении его массы на 4% за сутки и сохранении своей структуры. Полученный при этом кефир характеризуется следующими параметрами: органолептическая оценка 3,5 из 4, водородный показатель рН = 4 (при идеальном рН = 4,2), процентное соотношение колоний микроорганизмов 50 молочнокислых – 7 уксуснокислых – 40 молочных дрожжей (при идеальном сочетании 56 – 7 – 37).

4. Молоко № 3 (Питьевое стерилизованное) является неблагоприятной средой для жизнедеятельности тибетского грибка, что отражено в разрушении структуры. Полученный при этом кефир характеризуется следующими параметрами: органолептическая оценка 2,5 из 4, водородный показатель рН = 4,9 (при идеальном рН = 4,2), процентное соотношение колоний микроорганизмов 48 молочнокислых – 10 уксуснокислых – 42 молочных дрожжей (при идеальном сочетании 56 – 7 – 37).

5. Качество кефира напрямую зависит от качества используемого молока. Из трех видов магазинного молока наиболее качественный кефир был получен из молока № 2 (Молочный родник). Поэтому мы рекомендуем покупать именно эту марку. Марки молока № 3 (Питьевое стерилизованное) и № 4 (Любаня) – не подходят для приготовления качественного кефира, поэтому покупать эти марки молока мы не рекомендуем.

Реализация проекта

1. Выступление на классных часах.
2. Создание и распространение информационных листовок (рис. 14).

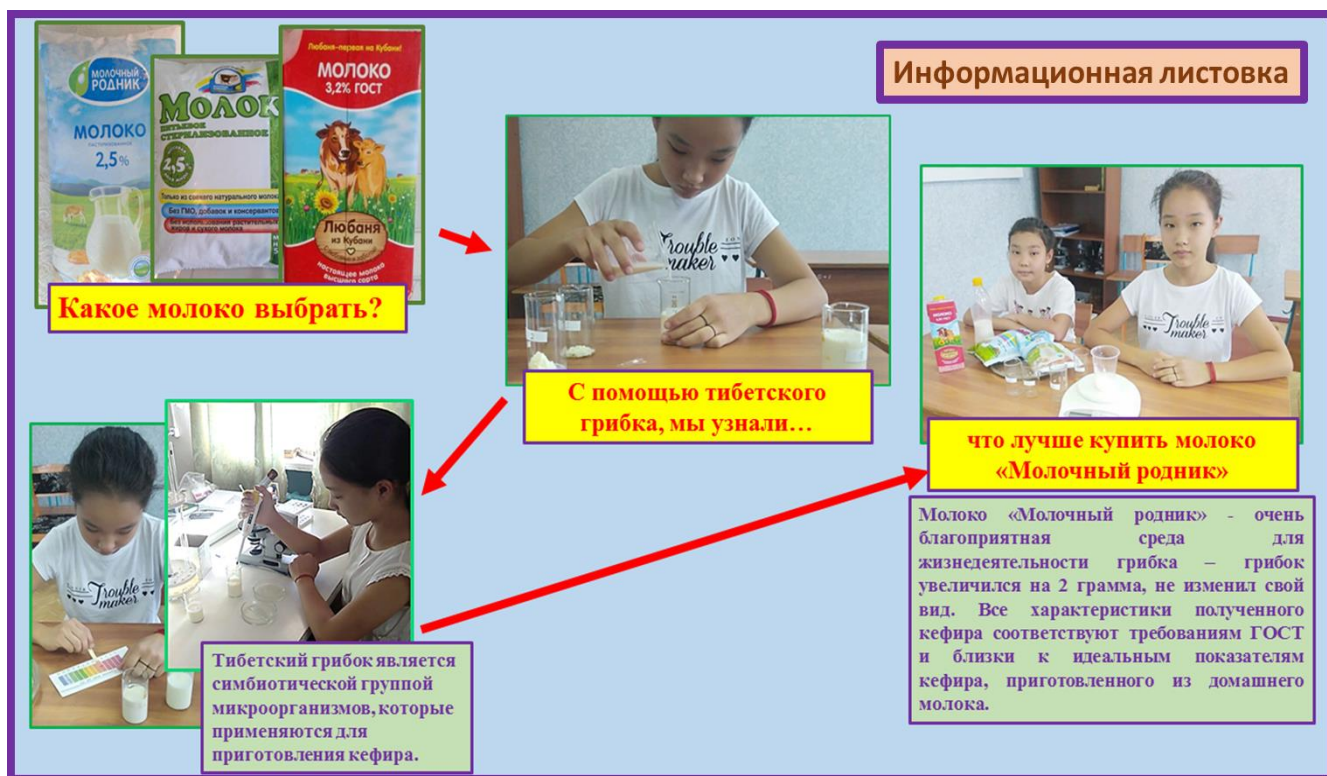


Рис. 14. Информационная листовка.

Список использованной литературы и Интернет-ресурсов.

1. Исследование тибетского молочного гриба. <https://goio.ru/tibetskij-molochnyj>.
2. Молочный тибетский гриб. Природа, история открытия и изучение. <https://www.liveinternet.ru/users>.
3. Тибетский молочный кефирный гриб. <https://maluta-blog.ru/pro-zdorove>.
4. Как правильно выращивать тибетский молочный гриб. <http://ergashaka.ru/stati/lekarstvennye-rasteniya>
5. Молочнокислые бактерии: что это и в чем их польза. <http://pishhevarenie.com/bolezni-zheludka>.
6. Микробиология молока и молокопродуктов. <https://studwood.ru/2335326/agropromyshlennost/drozhzhi>.
7. Получение кефира с помощью тибетского грибка. <http://luckclub.ru/molochnyj-grib>.
8. Органолептические показатели кефира (ГОСТ 31454-2012).
9. Определение pH среды кефира (Определение кислотности кефира ГОСТ 3624).
10. Метод выращивания бактерий на питательной среде агар-агар (ГОСТ 10444.11).
11. Определение доли молочнокислых бактерий в кефире (ГОСТ 10444.11).
12. Определение доли дрожжей в кефире (ГОСТ 10444.12).