



УКРАЇНА

(19) UA (11) 10367 (13) C1(51) C 12 N 1/20; A 23 C 9/12ДЕРЖАВНЕ  
ПАТЕНТНЕ  
ВІДОМСТВООПИС ДО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ЗАКВАСКИ "СИМБІТЕР" І СПОСІБ ВИРОБНИЦТВА БАКТЕРІАЛЬНОГО КОНЦЕНТРАТУ З ЇЇ ВИКОРИСТАННЯМ ДЛЯ КИСЛОМОЛОЧНИХ ПРОДУКТІВ

1

(21) 94010088

(22) 16.12.93

(24) 31.08.98

(46) 31.08.98. Бюл. № 4

(56) Авторское свидетельство СССР

№ 1604847, кл. С 12 N 1/20, 1990 (прототип).

(72) Янковський Дмитро Станіславович, Димент Галина Заменівна, Бондаренко Василь Маркович, Товкачевська Людмила Дмитрівна, Потребчук Олена Петрівна, Єгупова Ольга Юріївна

(73) Товариство з обмеженою відповідальністю – фірма "О.Д.Пролісок"

(57) 1. Способ получения бактериальной закваски, предусматривающий совместное культивирование в молоке бифидобактерий вида *Bifidobacterium longum*, уксуснокислых бактерий видов *Acetobacter aceti* и *Acetobacter pasteurianus*, последующее соединение сочетания с молочнокислыми бактериями, отличающийся тем, что в состав закваски дополнительно вводят штаммы пропионовокислых бактерий *Propionibacterium freudenreichii* и *Propionibacterium acidipropionici*, отобранные по витаминотрофическим свойствам и антагонистической активности в отношении потенциально патогенных микроорганизмов, из бифидобактерий дополнительно используют штаммы вида *Bifidobacterium bifidum*, при этом предварительно полученный симбиоз молочнокислых и уксуснокислых бактерий соединяют с симбиозом бифидобактерий, пропионовокислых и уксуснокислых бактерий в соотношении 1:3.

2. Способ получения бактериального концентрата с ее использованием для кисломолочных продуктов, предусматриваю-

2

щий приготовление питательной среды на молочной основе, ферментированной с применением уксуснокислых бактерий вида *Acetobacter aceti* с высокой протеолитической активностью, приготовление и внесение в питательную среду посевного материала, содержащего вязкие штаммы молочнокислых бактерий и уксуснокислые бактерии вида *Acetobacter aceti*, накопление бактериальной массы, отделение ее от культуральной среды, приготовление защитной среды на молочной основе, ферментированной сочетанием молочнокислых и уксуснокислых бактерий и смешивание бактериальной массы с защитной средой, отличающийся тем, что ферментацию молочной основы для приготовления питательной и защитной сред осуществляют сочетанием штаммов *Streptococcus thermophilus* ВКПМ В-4741, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ВКПМ В-4541 и *Acetobacter aceti* ВКПМ В-5495, в качестве посевного материала используют закваску, в состав которой входят бифидобактерии видов *Bifidobacterium longum* и *Bifidobacterium bifidum*, уксуснокислые бактерии видов *Acetobacter aceti* и *Acetobacter pasteurianus*, пропионовокислые бактерии видов *Propionibacterium freudenreichii* и *Propionibacterium acidipropionici*, молочнокислые бактерии при соотношении симбиоза молочнокислых и уксуснокислых бактерий с симбиозом бифидобактерий, пропионовокислых и уксуснокислых бактерий, равном 1:3.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что бактериальный концентрат замораживают или высушивают.

(19) UA (11) 10367 (13) C1

Изобретение относится к биотехнологии и может быть использовано в производстве заквасочных препаратов и кисломолочных продуктов массового и лечебно-профилактического назначения.

Наиболее близким к заявляемому является способ выращивания бифидобактерий, предусматривающий совместное культивирование в молоке бифидобактерий и уксуснокислых бактерий *Acetobacter acetii* и *Acetobacter pasteurianus* с повышенной протеолитической активностью и последующее соединение полученного сочетания с молочнокислыми бактериями при получении закваски [Авт. св. СССР № 1604847, кл. C 12 N 1/20, A 23 C 9/12, 1990].

Недостатком способа является использование только одного вида физиологически полезных микроорганизмов *Bifidobacterium longum*, что ограничивает диетическую и лечебно-профилактическую ценность закваски и получаемого с ее использованием кисломолочного продукта.

В основу изобретения поставлена задача создания способа получения бактериальной закваски "Симбистер" для кисломолочных продуктов, в котором путем введения в состав закваски штаммов пропионовокислых бактерий видов *Propionibacterium freudenreichii* и *Propionibacterium acidipropionici*, бифидобактерий вида *Bifidobacterium bifidum* и соединения симбиоза молочнокислых и уксуснокислых бактерий с симбиозом бифидобактерий, пропионовокислых и уксуснокислых бактерий в соотношении 1:3, обеспечивается повышение урожайности клеток в молоке, расширяется видовой состав микроорганизмов с лечебно-профилактическими свойствами, повышаются биотехнологическая и антагонистическая активности закваски и за счет этого повышаются лечебно-профилактические свойства закваски и кисломолочных продуктов с ее использованием.

Поставленная задача решается тем, что в способе получения бактериальной закваски "Симбистер", предусматривающем совместное культивирование в молоке бифидобактерий вида *Bifidobacterium longum*, уксуснокислых бактерий видов *Acetobacter acetii* и *Acetobacter pasteurianus* и последующее соединение сочетания с молочнокислыми бактериями, согласно изобретению в составе закваски дополнительно вводят штаммы пропионовокислых бактерий видов *Propionibacterium acidipropionici* и *Propionibacterium freudenreichii*, отобранные по витаминсинтезирующим свойствам и антагонистической активности в отношении потенциально патогенных микроорганиз-

мов, из бифидобактерий дополнительно используют штаммы вида *Bifidobacterium bifidum*, при этом предварительно полученный симбиоз молочнокислых и уксуснокислых бактерий соединяют с симбиозом бифидобактерий, пропионовокислых и уксуснокислых бактерий в соотношении 1:3.

Предлагаемый способ предусматривает использование дополнительного вида бифидобактерий *Bifidobacterium bifidum*. При этом отбирают штаммы, активно развивающиеся в молоке, обладающие антагонизмом в отношении потенциально патогенных микроорганизмов и биологически сочетающиеся с молочнокислыми, пропионовокислыми бактериями и штаммами *Bifidobacterium longum*.

Использование дополнительного вида бифидобактерий позволяет повысить лечебно-профилактические свойства закваски.

Кроме того, установлено, что ассоциативная культура бифидобактерий, содержащая одновременно штаммы видов *B. bifidum* и *B. longum*, отличается от монокультур этих микроорганизмов повышенной урожайностью клеток в молоке, увеличенной кислотообразующей способностью, усиленным антагонизмом в отношении потенциально патогенных микроорганизмов.

Данные свойства значительно усиливаются в присутствии уксуснокислых бактерий видов *Acetobacter acetii*, *Acetobacter pasteurianus*.

Свойства штаммов бифидобактерий и их ассоциаций приведены в табл. 1.

В предлагаемом способе уксуснокислые бактерии выполняют роль активаторов, аналогично их функции в прототипе. Однако при использовании двух видов бифидобактерий наиболее оптимальным соотношением между *B. bifidum*, *B. longum* и *Acetobacter* является 1:1:1.

При этом из уксуснокислых бактерий отбирают штаммы, способные активно развиваться при температуре 34-37°C, вызывающие прирост клеток молочнокислых, пропионовокислых и бифидобактерий при развитии с ними в совместной культуре не менее, чем на 50% после 12-часового культивирования.

Из пропионовокислых бактерий отбирают штаммы видов *Propionibacterium freudenreichii* и *Pr. acidipropionici*, обладающие высокими витаминсинтезирующей способностью, урожайностью клеток в молоке, антагонистическими свойствами, биологической совместимостью с молочнокислыми и бифидобактериями. Полезные свойства пропионовокислых бактерий значительно

усиливаются при одновременном использовании штаммов двух видов.

Использование пропионовокислых бактерий видов *Propionibacterium freudenreichii* и *Propionibacterium acidipropionici* приводит к появлению в закваске витаминотсинтезирующих свойств и увеличению антагонистической активности в отношении потенциально патогенной микрофлоры.

Свойства используемых штаммов пропионовокислых бактерий и их сочетаний приведены в табл. 2.

Установлено взаимное стимулирующее действие отобранных для закваски штаммов пропионовокислых бактерий и бифидобактерий. Стимулирующий эффект значительно усиливается в присутствии уксуснокислых бактерий.

Стабильную симбиотическую ассоциацию пропионовокислых, уксуснокислых и бифидобактерий, сохраняющую компонентный состав и основные свойства при многочисленных пересевах, получают при соединении штаммов *B.bifidum*, *B.longum*, *P.freudenreichii* и *P.acidipropionici*, *A.aceti* или (*A.pasteurianus*) в соотношении 2:2:1:2:1.

Сравнительная характеристика бифидосодержащих симбиозов, полученных предлагаемым и известным способами, приведена в табл. 3.

Из табл. 3 следует, что получаемый симбиоз превосходит известный урожайностью клеток в молоке, кислотообразующей способностью, антагонистическими свойствами. Содержание в составе симбиоза большого количества клеток четырех видов физиологически ценных микроорганизмов, способных приживаться и функционировать в кишечнике человека, обуславливает высокий лечебно-профилактический эффект закваски.

Для получения закваски "Симбистер" предварительно полученный симбиоз молочнокислых и уксуснокислых бактерий соединяют с симбиозом бифидобактерий, пропионовокислых и уксуснокислых бактерий в соотношении 1:3.

Такое соотношение является наиболее благоприятным для сохранения состава и свойств закваски. Изменение соотношения в сторону увеличения количества симбиоза бифидобактерий, пропионовокислых и уксуснокислых бактерий приводит к снижению молокозвертывающей активности закваски и потере стабильности состава при пересевах.

Увеличение в составе закваски количества симбиоза молочнокислых и уксуснокис-

лых бактерий приводит к уменьшению концентрации физиологически ценных микроорганизмов и дальнейшему уменьшению их количества при пересевах, что значительно снижает лечебно-профилактические свойства закваски и продуктов, получаемых с ее использованием.

Из молочнокислых бактерий в составе закваски используют штаммы видов: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, отобранные по свойствам, приведенным в табл. 4.

При этом при получении закваски "Симбистер" для производства продукта массового и профилактического назначения из молочнокислых бактерий используют только кокковидные формы бактерий родов *Lactococcus* и *Streptococcus*, а при получении закваски "Симбистер ацидофильный" для производства кисломолочного продукта лечебно-профилактического назначения используют все перечисленные виды молочнокислых бактерий, включая *Lactobacillus*.

Способ осуществляют следующим образом.

Отобранные штаммы молочнокислых бактерий предварительно соединяют с уксуснокислыми бактериями в соотношении 2:1. После 2-3 пересевов в молоко симбиотические сочетания молочнокислых и уксуснокислых бактерий соединяют в заданном соотношении и пересевают 8-10 раз в стерильное молоко. Симбиоз молочнокислых и уксуснокислых бактерий после 8-10 пересевов в молоко соединяют в соотношении 1:3 с симбиозом бифидобактерий, пропионовокислых и уксуснокислых бактерий.

Полученную закваску "Симбистер" пересевают 5-6 раз в стерильное молоко с проверкой стабильности состава и свойств.

Закваску получают двух видов: жидкую и сухую.

Для приготовления жидкой закваски полученную предлагаемым способом закваску вносят в стерильное молоко в количестве 1-5%. Молоко с закваской перемешивают и выдерживают при температуре 33-35°C в течение 8-16 ч до образования плотного вязкого сгустка. Скваженное молоко перемешивают и расфасовывают в стерильные емкости порциями по 10-20 см<sup>3</sup>.

Для получения сухой закваски жидкую закваску высушивают методом сублимации при следующих режимах: замораживание

при минус  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  в течение 4–24 ч, сушка при начальной температуре минус  $40 \pm 2^\circ\text{C}$ , конечной температуре плюс  $30 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Бактериальную закваску "Симбистер" используют при производстве кисломолочного продукта "Симбивит".

Предлагается также способ производства бактериального концентрата с использованием закваски "Симбистер" для кисломолочных продуктов.

Наиболее близким к заявляемому является способ производства бактериального концентрата для кисломолочных продуктов, предусматривающий приготовление питательной и защитной сред на основе обезжиренного молока, ферментированного сочетанием штаммов *Lactococcus lactis* и *Acetobacter pasteurianus* с высокой протеолитической активностью, приготовление и внесение в питательную среду посевного материала в виде симбиоза молочнокислых, уксуснокислых и бифидобактерий видов: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium longum* и *Acetobacter pasteurianus*, накопление бактериальной массы, отделение ее от культуральной среды, смешивание бактериальной массы с защитной средой, замораживание и сушку [Авт. св. СССР № 1679677, кл. А 23 С 9/12, С 12 N 1/20, 1989].

Недостатками концентрата являются невысокое содержание в нем живых клеток бифидобактерий (менее 10% от общей концентрации бактериальных клеток), ограниченный набор микроорганизмов с лечебно-профилактическими свойствами, что обуславливает низкий лечебно-профилактический эффект кисломолочных продуктов, получаемых с его использованием.

В основу изобретения поставлена задача создания способа производства бактериального концентрата для кисломолочных продуктов, в котором путем ферментации молочной основы для питательной и защитной сред сочетанием штаммов

*Streptococcus thermophilus* ВКПМ В-4741

*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ВКПМ В-4541

*Acetobacter aceti* ВКПМ В-5495

с использованием в качестве посевного материала бактериальной закваски "Симбистер", обеспечивается повышение в

концентрате содержания живых клеток микроорганизмов с лечебно-профилактическими свойствами, повышается антагонистическая активность в отношении условно патогенных микроорганизмов и за счет этого повышаются лечебно-профилактические свойства кисломолочных продуктов с использованием концентрата.

- 10 Поставленная задача решается тем, что в способе производства бактериального концентрата для кисломолочных продуктов, предусматривающем приготовление питательной среды на молочной основе, ферментированной сочетанием штаммов молочнокислых и уксуснокислых бактерий с высокой протеолитической активностью, приготовление и внесение в питательную среду посевного материала, накопление бактериальной массы, отделение ее от культуральной среды, приготовление защитной среды на основе обезжиренного молока, ферментированного сочетанием штаммов молочнокислых и уксуснокислых бактерий с высокой протеолитической активностью, и смешивание бактериальной массы с защитной средой, согласно изобретению ферментацию молочной основы для питательной и защитной сред осуществляют сочетанием штаммов

*Streptococcus thermophilus* ВКПМ В-4741

*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ВКПМ В-4541

- 35 *Acetobacter aceti* ВКПМ В-5495

- 40 в качестве посевного материала используют бактериальную закваску, в состав которой входят бифидобактерии видов *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, уксуснокислые бактерии видов *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus*, пропионовокислые бактерии видов *Propionibacterium freudenreichii* и *Propionibacterium acidipropionici*, молочнокислые бактерии при соотношении симбиоза молочнокислых и уксуснокислых бактерий с симбиозом бифидобактерий, пропионовокислых и уксуснокислых бактерий, равном 1:3.

Кроме того, бактериальный концентрат замораживают или высушивают.

- 50 Предлагаемый способ производства бактериального концентрата предусматривает использование в качестве посевного материала многоштаммового симбиоза молочнокислых, пропионовокислых, уксуснокислых и бифидобактерий (закваски "Симбистер"), что позволяет получить кон-

центрат с высокими лечебно-профилактическими свойствами.

Использование сочетания штаммов *Streptococcus thermophilus* ВКПМ В-4741

*Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* ВКПМ В-4541

*Acetobacter acetii* ВКПМ В-5495

для ферментации обезжиренного молока или молочной сыворотки при приготовлении питательной и защитной сред приводит к увеличению концентрации в бакпрепарате живых клеток микроорганизмов за счет обогащения питательной среды ростовыми факторами, а защитной среды – криозащитными компонентами.

Сравнительная характеристика ферментирующих сочетаний, используемых в предлагаемом и известном способах, приведена в табл. 5. Предлагаемое сочетание превосходит известное по протеолитической активности в отношении казеина и сывороточных белков и активизирующему влиянию на развитие клеток молочнокислых, пропионовокислых, уксуснокислых и бифидобактерий.

Бактериальный концентрат получают в жидком, замороженном или сухом виде. Замораживание или сушка жидкого концентрата позволяет увеличить срок его хранения. Срок хранения жидкого бактериального концентрата до 2-х месяцев. Срок хранения замороженного и сухого концентрата – до 6-ти месяцев.

Способ производства бактериального концентрата осуществляется следующим образом.

Для приготовления питательной среды сухое обезжиренное молоко или сухую молочную сыворотку растворяют в водопроводной воде с температурой 40–45°C из расчета 3–5 кг сухого молока или 4–6 кг сухой сыворотки на 100 кг воды, устанавливают pH 7,2–7,4 ед. водным раствором аммиака или гидроокиси натрия, стерилизуют при 121°C в течение 10–15 мин, охлаждают до температуры 33–34°C и вносят 3–5% инокулята сочетания штаммов

*Streptococcus thermophilus* ВКПМ В-4741  
*Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* ВКПМ В-4541

*Acetobacter acetii* ВКПМ В-5495  
взятых в соотношении 2:2:1. Смесь перемешивают и выдерживают в течение 6–12 ч. В процессе ферментации в среде накапливается до 215 мг.% аминного азота за счет протеолиза молочных белков.

В ферментированную среду вносят в виде стерильных растворов 1,5% лимоннокис-

лого натрия трехзамещенного; 0,1% сернокислого магния, 0,02% сернокислого марганца, 0,2% калия фосфорнокислого однозамещенного и 0,4% натрия фосфорнокислого двухзамещенного. В среде устанавливают pH 6,4–6,7 ед. и вносят 3–5% посевного материала.

Для приготовления посевного материала в обезжиренное стерильное молоко или в питательную среду вносят 3–5% инокулята закваски "Симбитер". Заквашенную среду перемешивают и выдерживают при температуре 33–34°C в течение 10–12 ч.

Питательную среду после внесения посевного материала перемешивают и выдерживают при 32–34°C в течение 10–12 ч при непрерывном или периодическом раскислении культуральной среды водным раствором аммиака или гидроокиси натрия до pH 6,4–6,7 ед.

После окончания процесса накопления бактериальной массы, ее отделяют от культуральной среды на суперцентрифуге или бактофуге и смешивают в соотношении 1:1 с защитной средой, которую готовят следующим образом. Сухое обезжиренное молоко растворяют в водопроводной воде из расчета 120–150 г сухого молока на 1 л воды. Восстановленное молоко стерилизуют при 121°C в течение 10–15 мин, охлаждают до температуры 33–34°C и инокулируют 3–5% сочетания штаммов:

*Streptococcus thermophilus* ВКПМ В-4741  
*Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* ВКПМ В-4541

*Acetobacter acetii* ВКПМ В-5495  
Ферментацию проводят в течение 10–12 ч при температуре 33–34°C, затем вносят 10% сахарозы и 5% лимоннокислого натрия трехзамещенного и устанавливают pH: 6,7–6,8 ед.

При получении жидкого бакконцентрата суспензию клеток в защитной среде расфасовывают в стерильные емкости порциями по 20±5 см<sup>3</sup>.

При получении замороженного бакконцентрата суспензию клеток замораживают в атмосфере жидкого азота до температуры минус 196°C.

При получении сухого бакконцентрата его высушивают методом сублимации при следующих режимах: температура замораживания минус 40–42°C, продолжительность замораживания 4–24 ч, температура в начале сушки минус 40–42°C, в конце сушки – плюс 28–30°C, продолжительность сушки 20–36 ч.

Сухой бакконцентрат расфасовывают в стерильные флаконы порциями массой  $1 \pm 0,1$  г.

Примеры осуществления способа.

Пример 1. Получение бактериальной закваски "Симбитер" для приготовления кисломолочного продукта "Симбивит" в промышленных условиях.

В 30 мл стерильного обезжиренного молока вносят следующие штаммы в количестве, мл:

*Bifidobacterium bifidum* ВКПМ В-5799 0,2

*Bifidobacterium bifidum* ВКПМ В-5798 0,2

*Bifidobacterium longum* ВКПМ В-4557 0,2

*Bifidobacterium longum* ВКПМ В-4635 0,2

*Propionibacterium freudenreichii* ВКПМ В-4544 0,2

*Propionibacterium acidopropionici* ВКПМ В-5800 0,4

*Acetobacter aceti* ВКПМ В-2847 0,2

Смесь тщательно перемешивают и выдерживают при  $34^{\circ}\text{C}$  в течение 12 ч. Полученный симбиоз бифидобактерий, пропионовокислых и уксуснокислых бактерий пересевает 8 раз в стерильное молоко с периодичностью 3 суток.

Одновременно готовят симбиоз молочнокислых и уксуснокислых бактерий. Каждый из отобранных штаммов молочнокислых бактерий предварительно соединяют со штаммом уксуснокислых бактерий *Acetobacter aceti* ВКПМ В-2847 в соотношении 2:1, пересевает 2 раза в стерильное обезжиренное молоко и используют для составления симбиоза.

Для этого в 10 мл стерильного обезжиренного молока вносят сочетания штаммов в следующем количестве, мл:

*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ВКПМ В-5387 0,1

*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ВКПМ В-2058 0,05

*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ВКПМ В-4999 0,05

*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* ВКПМ В-4998 0,2

*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* ВКПМ В-4303 0,05

*Streptococcus thermophilus* ВКПМ В-2406 0,1

*Streptococcus thermophilus* ВКПМ В-4307 0,1

Многоштаммовый симбиоз молочнокислых и уксуснокислых бактерий пересевает 8 раз в стерильное обезжиренное молоко, а затем соединяют с симбиозом би-

фидобактерий, пропионовокислых и уксуснокислых бактерий в соотношении 1:3. Полученный заквасочный симбиоз "Симбитер" пересевает 5 раз в стерильное обезжиренное молоко.

С использованием приготовленного симбиоза готовят сухую закваску "Симбитер" для производства лечебно-профилактического кисломолочного продукта "Симбивит".

С этой целью в 5 л стерильного обезжиренного молока вносят  $50 \text{ см}^3$  (1%) заквасочного симбиоза. Заквашенное молоко перемешивают и выдерживают при температуре  $34^{\circ}\text{C}$  в течение 16 ч до образования плотного вязкого сгустка кислотностью  $82^{\circ}\text{T}$ .

Сквашенное молоко перемешивают, расфасовывают в стерильные флаконы порциями по  $2 \text{ см}^3$  и высушивают методом сублимации при следующих режимах: замораживание при температуре минус  $40^{\circ}\text{C}$  в течение 24 ч, сушка при начальной температуре сушки минус  $40^{\circ}\text{C}$ , конечной температуре  $+28^{\circ}\text{C}$ .

Сухую закваску "Симбитер" используют в производстве продукта "Симбивит".

Приготовление закваски проводят в два этапа.

Для приготовления лабораторной закваски в 2 л стерильного обезжиренного молока вносят одну порцию сухой закваски "Симбитер". Инокулированное молоко тщательно перемешивают и выдерживают при  $34^{\circ}\text{C}$  в течение 15 ч до образования плотного вязкого сгустка кислотностью  $75^{\circ}\text{T}$ .

Для получения производственной закваски в 60 кг молока, пастеризованного при температуре  $95^{\circ}\text{C}$  с выдержкой 45 мин и охлажденного до  $34^{\circ}\text{C}$ , вносят 2 кг лабораторной закваски. Смесь перемешивают и выдерживают при температуре  $34^{\circ}\text{C}$  в течение 10 ч до образования плотного вязкого сгустка.

Характеристика закваски приведена в табл. 6.

Для получения кисломолочного продукта "Симбивит" 2000 кг молока, нормализованного по жиру из расчета получения в готовом продукте массовой доли жира 3,2%, пастеризуют при температуре  $95^{\circ}\text{C}$  с выдержкой 5 мин, охлаждают до  $34^{\circ}\text{C}$  и смешивают с 60 кг производственной закваски. Заквашенную смесь перемешивают и выдерживают при  $34^{\circ}\text{C}$  в течение 8 ч до образования плотного вязкого сгустка. Готовый продукт перемешивают, охлаждают и разливают.

Характеристика продукта приведена в табл. 7.

**Пример 2.** Получение бактериальной закваски "Симбитер ацидофильный" для приготовления кисломолочного продукта "Симбивит ацидофильный" в домашних условиях.

Осуществляют как пример 1, за исключением того, что для приготовления заквасочных симбиозов используют другие штаммы видов микроорганизмов, характеристики которых представлены в табл. 1, 2, 4. Из молочнокислых бактерий обязательно используют штаммы вида *Lactobacillus acidophilus*.

Характеристика закваски представлена в табл. 6, характеристика продукта в табл. 7.

**Пример 3.** Получение бактериальной закваски "Симбитер" для приготовления кисломолочного продукта "Симбивит" в промышленных условиях.

Осуществляют как пример 1, за исключением того, что для приготовления заквасочных симбиозов используют другие штаммы, характеристики которых представлены в табл. 1, 2, 4.

Характеристика закваски представлена в табл. 6, характеристика продукта — в табл. 7.

**Пример 4.** Приготовление сухого бактериального концентрата "Симбитер" для производства кисломолочного продукта "Симбивит".

Для приготовления питательной среды берут 15 кг сухого молока, растворяют его в небольшом количестве водопроводной воды с температурой 45°C, доводят массу до 500 кг, устанавливают pH 7,4 ед. 25% водным раствором аммиака. Восстановленное молоко стерилизуют при 121°C в течение 15 мин, охлаждают до температуры 33°C и инокулируют его 3% инокулята — сочетания штаммов

*Streptococcus thermophilus* ВКПМ В-4741

*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ВКПМ В-4541

*Acetobacter aceti* ВКПМ В-5495  
взятых в соотношении 2:2:1. Смесь перемешивают и выдерживают в течение 12 ч при температуре 33°C.

В ферментированное молоко вносят в виде стерильных растворов 7,5 кг лимоннокислого натрия трехзамещенного, 0,5 кг сернокислого магния, 0,1 кг сернокислого марганца, 1 кг фосфорнокислого калия однозамещенного, 2 кг фосфорнокислого натрия двухзамещенного. В среде устанавливают pH 6,4 ед. 25%-м водным раствором аммиака и вносят 15 кг (3%) посевного материала.

Для приготовления посевного материала в 15 кг питательной среды вносят 45 см<sup>3</sup> (3%) инокулята заквасочного симбиоза "Симбитер", приготовленного согласно примеру 1. Инокулированную среду перемешивают и выдерживают при 33°C в течение 12 ч.

Готовый посевной материал вносят в основной объем питательной среды. Смесь перемешивают и выдерживают при температуре 33°C в течение 12 ч при непрерывном раскислении культуральной среды водным раствором аммиака до pH 6,4 ед.

Затем бактериальную массу отделяют от культуральной среды на суперцентрифуге и смешивают в соотношении 1:1 с защитной средой.

Для получения защитной среды 120 г сухого обезжиренного молока растворяют в 1 л водопроводной воды. Восстановленное молоко стерилизуют при 121°C в течение 15 мин, охлаждают до температуры 33°C и инокулируют 3% культуры сочетания штаммов *Streptococcus thermophilus* ВКПМ В-4741

*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ВКПМ В-4541

*Acetobacter aceti* ВКПМ В-5495  
в соотношении 2:2:1.

Ферментацию проводят в течение 12 ч при температуре 33°C. В ферментированное молоко вносят 10% сахарозы, 5% лимоннокислого натрия трехзамещенного и устанавливают pH 6,8 ед. водным раствором аммиака.

Суспензию клеток в защитной среде высушивают методом сублимации при следующих режимах: температура замораживания минус 40°C, продолжительность замораживания 24 ч, начальная температура сушки минус 40°C, конечная — плюс 28°C, продолжительность сушки 24 ч.

Сухой бакконцентрат расфасовывают в стерильные флаконы порциями массой 1,0 г.

Характеристика концентрата приведена в табл. 8.

Производство кисломолочного продукта "Симбивит" с использованием полученного сухого бакконцентрата осуществляют следующим образом.

Одну порцию (1 г) сухого концентрата растворяют в 10 кг стерильного обезжиренного молока, смесь тщательно перемешивают и выдерживают при 33°C в течение 2 ч для активизации бактериальных клеток.

Активизированный бакконцентрат вносят в 3000 кг нормализованной и пастеризованной молочной смеси. Инокулированную смесь выдерживают при 33°C в течение 10 ч до образования сгустка кислотностью 72°C.

Готовый продукт перемешивают, охлаждают и расфасовывают.

**П р и м е р 5.** Приготовление жидкого бактериального концентрата для производства кисломолочного продукта "Симбивит".

Осуществляют как пример 4, за исключением того, что для приготовления посевного материала используют заквасочный симбиоз "Симбитер ацидофильный", полученный согласно примеру 2. Суспензию клеток в защитной среде расфасовывают в стерильные флаконы порциями по 20 см<sup>3</sup>.

Характеристика концентрата приведена в табл. 8.

**П р и м е р 6.** Приготовление замороженного бактериального концентрата для производства кисломолочного продукта "Симбивит".

Осуществляют как пример 4, за исключением того, что для приготовления посевного материала используют заквасочный симбиоз "Симбитер", полученный согласно примеру 3. Суспензию клеток в защитной среде расфасовывают порциями по 20 см<sup>3</sup>, помещают в атмосферу жидкого азота и замораживают при температуре минус 196°С.

Характеристика концентрата приведена в табл. 8.

В табл. 6 приведена сравнительная характеристика бактериальных заквасок, приготовленных предлагаемым и известным способами.

Закваски, приготовленные предлагаемым способом, отличаются повышенной урожайностью клеток в молоке, более широким спектром микроорганизмов с лечебно-профилактическими свойствами, умеренным кислотонакоплением и высокой антагонистической активностью в отношении многих видов потенциально патогенных микроорганизмов.

В табл. 8 приведена сравнительная характеристика бакконцентратов, полученных предлагаемым и известным способами.

Предлагаемый способ позволяет значительно повысить в концентрате содержание живых клеток микроорганизмов с лечебно-профилактическими свойствами и получить концентрат с высокой антагонистической активностью.

Кисломолочные продукты, приготовленные с использованием предлагаемых заквасок, превосходят известные продукты содержанием живых клеток полезных микроорганизмов, способных приживаться и функционировать в кишечнике человека, умеренной кислотностью, высокой антагонистической активностью (табл. 7).

Возможность использования заквасок в домашних условиях позволит сократить заболевания дисбактериозами и другими желудочно-кишечными расстройствами.

Таблица 1

Характеристика бифидобактерий, отбираемых в состав закваски, и их ассоциаций

Показатели	<i>B. bifidum</i>	<i>B. longum</i>	<i>B. bifidum</i> <i>B. longum</i> (1:1)	<i>B. bifidum</i> <i>B. longum</i> <i>Acetobacter</i> (1:1:1)
Кислотность в молоке в 12-часовой культуре, °Т	28-34	26-32	40-54	70-85
Предельная кислотность в молоке, °Т	70-95	50-70	90-100	110-130
Урожайность клеток в молоке, млн. к. о. е. /см <sup>3</sup>				
<i>Bifidobacterium</i>	20-200	60-500	500-800	1000-2000
<i>Acetobacter</i>	-	-	-	400-600
Активность свертывания молока при 37°С и 5% инокулята, ч	18-36	24-48	14-16	8-10
Антагонистическая активность, % подавления роста патогенных тест-культур:				
<i>Escherichia coli</i>	40-70	40-50	60-70	80-90



Продолжение табл. 1

Показатели	<i>B. bifidum</i>	<i>B. longum</i>	<i>B. bifidum</i> <i>B. longum</i> (1:1)	<i>B. bifidum</i> <i>B. longum</i> Acetobacter (1:1:1)
<i>Staphylococcus aureus</i>	30-50	40-50	60-70	80-92
<i>Bacillus cereus</i>	50-60	40-60	65-75	90-96
<i>Candida albicans</i>	20-30	40-50	58-70	75-85
<i>Proteus mirabilis</i>	15-30	40-50	70-85	95-100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40-55	60-70	85-90	85-90
<i>Shigella flexneri</i>	30-50	70-80	90-95	95-100
Индекс адгезивности, %	0,5-0,6	0,5-0,6	0,7-0,8	0,90 0,95
Выживаемость клеток при 2-часовой выдержке при кислотности желудочного сока, %	30-50	45-55	65-75	85-90

Таблица 2

Характеристика используемых в составе закваски штаммов пропионовокислых бактерий и их сочетаний

Показатели	Pr. freudenreichii	Pr. acidipropionici	Pr. freudenreichii + + Pr. acidipropionici (1:1)	Pr. freudenreichii + + Pr. acidipropionici (2:1)	Pr. freudenreichii + + Pr. acidipropionici (1:2)
Урожайность клеток в молоке, к.о.е./см <sup>3</sup>	(1-5)х х 10 <sup>8</sup>	(5-10)х х 10 <sup>8</sup>	(10-15)х х 10 <sup>8</sup>	(10-15)х х 10 <sup>8</sup>	(20-30)х х 10 <sup>8</sup>
Кислотность в 24-часовой культуре в молоке, °Т	30-36	48-54	65-70	70-75	85-100
Активность свертывания молока, ч	12-56	12-56	10-48	10-42	8-16
Витаминосинтезирующая способность, мкг/кг витаминов:					
В <sub>1</sub>	550-800	400-500	450-520	460-520	500-600
В <sub>2</sub>	490-720	500-700	580-800	600-800	800-1000
В <sub>12</sub>	500-550	600-800	620-850	680-850	850-980
Антагонистическая активность в отношении потенциально патогенных микроорганизмов (подавление роста клеток тест-культур), %					
<i>E. coli</i>	30-50	40-50	45-50	40-50	55-60
<i>S. aureus</i>	20-40	35-45	50-60	50-60	55-65
<i>B. cereus</i>	20-30	20-30	20-30	25-35	40-50
<i>C. albicans</i>	20-30	15-25	20-30	30-40	50-60

Продолжение табл. 2

Показатели	Pr. freudenrei- chii	Pr. acidipro- plonici	Pr. freudenrei- chii + + Pr. acidipro- plonici (1:1)	Pr. freudenrei- chii + + Pr. acidipro- plonici (2:1)	Pr. freudenrei- chii + + Pr. acidipro- plonici (1:2)
Ps. aeruginosa	31-40	20-30	20-30	20-30	40-45
Sh. flexneri	25-35	30-40	40-50	45-60	50-60
Pr. mirabilis	20-30	30-40	40-50	40-50	50-65
Индекс адгезивности, %	0,4-0,5	0,5-0,6	0,5-0,6	0,6-0,7	0,7-0,8
Выживаемость клеток при 2-часовой выдержке при кислотности желудочного сока, %	40-50	45-60	60-70	65-80	75-90

Таблица 3

Сравнительная характеристика бифидосодержащих симбиозов, приготовленных предлагаемыми и известными способами

Показатели	B. longum A. aceti (A. pasteurii + nus) 3:1 (известный)	B. bifidum B. longum Pr. freudenr. Pr. acidipr. A. aceti (A. pasteur.) 2:2:1:2:1 (предлагае- мый)	B. bifidum B. longum Pr. freudenr. Pr. acidipr. A. aceti (A. pasteur.) 1:2:1:2:1	B. bifidum B. longum Pr. freudenr. Pr. acidipr. A. aceti (A. pasteur.) 2:1:1:2:1	B. bifidum B. longum Pr. freudenr. Pr. acidipr. A. aceti (A. pasteur.) 1:1:1:1:1
Количество видов микроорганизмов с лечебно-профилактическими свойствами	1	4	4	4	4
Урожайность клеток в молоке, к.о.е./см <sup>3</sup> , млрд.	1,3-2,1	4,5-5,0	4,0-4,2	3,8-4,0	3,5-4,0
Кислотность 12-часовой культуры в молоке, °Т	65-70	85-90	75-80	75-80	80-85
Антагонистическая активность в отношении потенциально патогенных микроорганизмов (подавление роста клеток тест-культур), %					
E. coli	35-45	95-100	90-92	90-95	90-94
S. aureus	-	90-95	80-90	8-88	85-90
B. cereus	-	98-100	90-95	78-82	70-75
C. albicans	-	90-95	85-90	70-80	75-82
Pr. mirabilis	30-35	98-100	95-100	85-90	85-90
Ps. aeruginosa	20-30	95-100	95-100	90-95	80-87
Sh. flexneri	20-30	98-100	92-96	80-85	80-85

Таблица 4

Свойства молочнокислых бактерий, используемых в составе закваски

Показатели	Характеристика штаммов видов						
	<i>L. lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	<i>L. lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	<i>L. lactis</i> bivar. <i>diacetyl-</i> <i>lactis</i>	<i>Str.</i> <i>thermo-</i> <i>philus</i>	<i>Lb.</i> <i>acido-</i> <i>philus</i>	<i>Lb.</i> <i>helve-</i> <i>ticus</i>	<i>Lb.</i> <i>delb-</i> <i>riekii</i> ssp. <i>bulga-</i> <i>ricus</i>
Молокосвертывающая активность в молоке, не менее, ч	6,0	7,0	8,5	4,5	5,0	7,0	7,0
Предельная кислотность в молоке, не более, °Т	120	115	115	110	250	220	250
Урожайность клеток в молоке, не менее, к.о.е./см <sup>3</sup>	3,0 x x 10 <sup>8</sup>	2,5 x x 10 <sup>8</sup>	3,0 x x 10 <sup>8</sup>	1,0 x x 10 <sup>8</sup>	2,0 x x 10 <sup>8</sup>	1,5 x x 10 <sup>8</sup>	1,5 x x 10 <sup>8</sup>
Синтез загустителей консистенции, не менее, %	0,6	0,8	0,5	1,0	0,3	0,1	0,3
Устойчивость к концентрации желчи, не менее, %	30	20	30	30	40	40	40
Устойчивость к концентрации фенола, не менее, %	0,3	0,3	0,3	0,3	0,5	0,4	0,4
Антагонистическая активность (подавление роста клеток тест-культур), %							
<i>E. coli</i>	30	20	20	20	60	40	40
<i>S. aureus</i>	20	15	15	20	70	50	50
<i>B. cereus</i>	60	50	50	50	80	60	60

Таблица 5

Сравнительная характеристика сочетаний молочнокислых и уксуснокислых бактерий, используемых для ферментации молочной основы при приготовлении питательных сред в известном и предлагаемом способах

Показатели	L. lactis B-4543 A. pasteur. B-3395 (известный) 3:1	S. thermophilus B-4741 L. lactis ssp. cremoris B-4541 A. aceti B-5495 (заявляемый) 2:2:1	S. therm. B-4741 L. lactis ssp. cremoris B-4541 A. aceti B-5495 2:3:1	S. therm. B-4741 L. lactis ssp. cremoris B-4541 A. aceti B-5495 1:1:2	S. therm. B-4741 L. lactis ssp. cremoris B-4541 A. aceti B-5495 3:2:1
Протеолитическая активность при 12-часовом культивировании в молоке при 34°C, мг % аминного азота	176-189	200-215	195-200	190-195	196-200
Протеолитическая активность при 12-часовом культивировании в молочной сыворотке при 34°C, мг % аминного азота	30-34	150-200	100-150	120-150	100-140
Активизирующее влияние на развитие клеток, % молочнокислых бактерий	30-50	150-250	100-200	100-150	100-150
пропионовокислых бактерий	20-30	300-400	150-250	150-200	150-200
бифидобактерий	40-50	400-500	300-350	300-400	300-350
уксуснокислых бактерий	20-30	150-200	100-150	100-150	150-200

Таблица 6

Сравнительная характеристика бактериальных заквасок, получаемых известным и предлагаемым способами

Показатели	Закваска известная	Закваска по примерам		
		1	2	3
Количество штаммов в закваске	3	14	20	18
Содержание живых бактериальных клеток, к. о. е./см <sup>3</sup>	6,0 x 10 <sup>8</sup>	1,0 x 10 <sup>9</sup>	1,5 x 10 <sup>9</sup>	1,5 x 10 <sup>9</sup>
бифидобактерий	~	6,7 x 10 <sup>8</sup>	5,4 x 10 <sup>8</sup>	9,0 x 10 <sup>8</sup>
пропионовокислых бактерий				

Продолжение табл. 6

Показатели	Закваска известная	Закваска по примерам		
		1	2	3
молочнокислых бактерий	$2,0 \times 10^8$	$5,5 \times 10^8$	$4,9 \times 10^8$	$6,3 \times 10^8$
уксуснокислых бактерий	$1,5 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$	$1,8 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$
Предельная кислотность в молоке, °Т	250	120	170	120
Антагонистическая активность (подавление роста клеток тест-культур потенциально патогенных микроорганизмов), %				
E. coli	40-50	95-100	95-100	95-100
S. aureus	20-30	90-95	95-100	90-95
B. cereus	20-30	95-100	98-100	91-98
C. albicans	-	80-90	95-100	80-85
Pr. mirabilis	10-15	85-95	85-95	80-90
Ps. aeruginosa	5-10	70-80	95-100	75-85
Sh. flexneri	-	75-85	90-95	80-85
Kl. pneumonia	-	70-78	95-100	75-80

Таблица 7

Сравнительная характеристика кисломолочных продуктов, получаемых с использованием предлагаемой и известной заквасок

Показатели	Характеристика продуктов по примерам			
	1,4	2,5	3,6	по известному
Органолептическая оценка	Чистый кисломолочный вкус, однородная вязкая консистенция			Излишне кислый вкус, тягучая недостаточная плотная консистенция
Содержание живых клеток микроорганизмов с лечебно-профилактическими свойствами, к. о. е./см <sup>3</sup>				
B. longum	$8,5 \times 10^8$	$9,0 \times 10^8$	$8,4 \times 10^8$	$6,0 \times 10^8$
B. bifidum	$2,4 \times 10^9$	$3,0 \times 10^9$	$3,2 \times 10^9$	-
Pr. freudenreichii	$3,0 \times 10^8$	$3,8 \times 10^8$	$4,0 \times 10^8$	-
Pr. acidipropionici	$5,6 \times 10^8$	$8,4 \times 10^8$	$5,7 \times 10^8$	-
молочнокислые бактерии	$3,9 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8$	$3,6 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$
Кислотность готового продукта, °Т	80	85	76	80

Продолжение табл. 7

Показатели	Характеристика продуктов по примерам			
	1,4	2,5	3,6	по изветному
Кислотность после хранения в течение трех суток в холодильнике, °Т	82	88	77	170
Антагонистическая активность в отношении потенциально патогенных микроорганизмов (подавление роста клеток тест-культур). %:				
E. coli	95-100	98-100	95-100	45-55
S. aureus	96-100	98-100	96-100	20-30
B. cereus	98-100	98-100	98-100	40-50
C. albicans	90-95	93-100	84-90	-
Pr. mirabilis	75-80	95-100	80-86	-
Ps. aeruginosa	80-85	97-100	85-90	-
Sh. flexneri	70-72	90-95	78-87	-
Kl. pneumonia	76-81	95-100	77-85	-

Таблица 8

Сравнительная характеристика бактериальных концентратов, получаемых предлагаемым и известным способами

Показатели	Бакконцентрат по примеру			Бакконцентрат известный
	4	5	6	
Количество жизнеспособных клеток молочнокислых стрептококков в 1 г концентрата, к.о.е.	$1,0 \times 10^{12}$	$1,7 \times 10^{12}$	$1,2 \times 10^{12}$	$(3,5-7,8) \times 10^{11}$
Количество жизнеспособных клеток молочнокислых палочек в 1 г концентрата, к.о.е.	-	$1,3 \times 10^{12}$	-	$9,3 \times 10^{11}$
Количество жизнеспособных клеток бифидобактерий в 1 г концентрата, к.о.е.	$4,9 \times 10^{11}$	$7,0 \times 10^{11}$	$85,7 \times 10^{11}$	$(2,5-4,0) \times 10^{10}$
Количество жизнеспособных клеток пропионовокислых бактерий в 1 г концентрата, к.о.е.	$1,2 \times 10^{11}$	$3,3 \times 10^{11}$	$2,9 \times 10^{11}$	-

Продолжение табл. 8

Показатели	Бакконцентрат по примеру			Бакконцентрат известный
	4	5	6	
Количество жизнеспособных клеток уксуснокислых бактерий в 1 г концентрата, к.о.е.	$3,3 \times 10^8$	$4,0 \times 10^8$	$6,4 \times 10^8$	$(1,2-2,7) \times 10^{11}$
Активность концентрата (при внесении 0,5 г на 1 л молока), время свертывания, ч	5,5	5,0	5,5	6,0
Антагонистическая активность концентрата (подавление роста клеток потенциально патогенных микроорганизмов), %				
E. coli	95-100	98-100	95-100	30-50
S. aureus	92-97	99-100	90-96	15-20
B. cereus	95-100	99-100	90-95	30-45
C. albicans	87-90	95-100	86-90	-
Pr. mirabilis	90-95	98-100	90-95	-
Ps. aeruginosa	92-97	95-100	96-100	10-16
Sh. flexneri	90-93	92-100	90-95	-
Kl. pneumonia	86-90	96-100	90-95	-

Упорядник

Техред М.Келемеш

Коректор М.Самборська

Замовлення 4525

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,  
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул.Гагаріна, 101

