



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 57111

(13) C2

(51) 7 A23C9/12, C12N1/20

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ БАКТЕРІАЛЬНОГО КОНЦЕНТРАТУ ДЛЯ РЯЖАНКИ

1

2

(21) 2000042367

(22) 25 04 2000

(24) 16 06 2003

(46) 16 06 2003, Бюл. № 6, 2003 р.

(72) Кігель Наталя Федорівна, Тарадій Ганна Кирилівна, Потемська Оксана Іванівна, Єресько Георгій Олексійович

(73) ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ІНСТИТУТ МОЛОКА ТА М'ЯСА УКРАЇНСЬКОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК
(56) ТУ 10-02-02-789-30-90, 01 01 91

SU A1 1839311, 26 07 90

Ростроса Н.К. Технология молока и молочных продуктов М., "Пищевая промышленность", 1980, 192 стр.

(57) 1 Спосіб одержання бактеріального концентрату для ряжанки, який передбачає культивування термофільних молочнокислих стрептококів в живильному середовищі, відокремлення одержан

ної біомаси, змішування її з захисним середовищем, заморожування та сушіння методом сублімації, який відрізняється тим, що використовують відібрані за здатністю до синтезу в'язких полімерів та зниження холестерину штами *Streptococcus thermophilus* ВКПМ В-4464, ВКПМ В-7773 і ВКПМ В-7774 у співвідношенні (1-2) 1:1

2 Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що для приготування живильного середовища для накопичення біомаси використовують сухе знежирене молоко, білки якого гідролізують протосубтиліном, та стимулятори росту, мас. % лимоннокислий натрій - 1,0, кукурудзяний екстракт - 2,0 сірчано-кислий марганець - 0,016, знежирене молоко - 1,0 і воду - решта

3 Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що бактеріальний концентрат застосовують безпосередньо для виробництва ряжанки

Винахід відноситься до біотехнології і може використовуватися в молочній промисловості для виробництва ферментованих молочних продуктів.

Відомо спосіб приготування бактеріального закваски для ряжанки, котрий передбачає культивування термофільного стрептокока в стерилізованому знежиреному молоці при температурі 40°C (Інструкція по приготуванню і примененню заквасок для кисломолочних продуктів на підприємствах молочної промисловості - М., 1984). Недоліком цього способу є трудомісткість приготування закваскової культури та значна тривалість технологічного процесу виробництва цільового продукту.

Одним із шляхів інтенсифікації виробництва кисломолочних продуктів є застосування бактеріальних концентратів, що дозволяє скоротити затрати праці на приготування виробничих заквасок та уникнути вторинної контамінації сторонньою мікрофлорою під час пересадок. Крім того, бактеріальні концентрати можна застосовувати на заводах, де немає необхідних умов для приготування і контролю пересадкових заквасок.

Відомий спосіб одержання бактеріального концентрату для кисломолочних продуктів передбачає приготування живильного середовища, інюляцію термофільними стрептококами, культиву-

вання, відокремлення біомаси, змішування її з захисним середовищем, заморожування та сушіння (А.с. СССР №1839311 А23С9/12, 1993). Бактеріальний концентрат, одержаний згідно з цим способом, дозволяє скоротити тривалість технологічного процесу виробництва цільового продукту в порівнянні з використанням закваски. Однак за складом мікрофлори ця закваскова культура відрізняється від типової, що використовується для виробництва ряжанки, оскільки поряд з термофільними молочнокислими стрептококами містить *Enterococcus faecium*, який надає ферментованому продукту особливу, не характерну для ряжанки органолептику.

Найближчим до способу, що заявляється, є спосіб виробництва сухого бактеріального концентрату термофільних молочнокислих стрептококів для виробництва ряжанки, варенця, простокваші південної, йогурту, напою "Сніжок" (Технологічна інструкція по виробництву бактеріального концентрату термофільних молочнокислих стрептококів ТУ 10-02-02789-30-90) - прототип.

Відповідно до цього способу в живильне середовище на основі освітленої молочної сироватки, яка містить стимулятори росту (лимоннокислий натрій, сахарозу, кукурудзяний екстракт, знежирене молоко, сірчано-кислий марганець та аскорбіно-

(13) C2

(11) 57111

(19) UA

ву кислоту), вносять інокулянт термофільних стрептококів. Накопичення біомаси здійснюють при 40 °C на протязі 8-12 год. Потім біомасу відокремлюють від культуральної рідини, змішують з захисним середовищем, заморожують і висушують методом сублімації. Однак спосіб не передбачає відбір штамів за стійкістю до інгібіторів і здатністю до зниження рівню холестерину при ферментації, тому продукт, одержаний на цьому концентраті, не вирізняється високими лікувально-дієтичними властивостями. Застосування одержаного за прототипом концентрату при виробництві ряжанки також передбачає небажані операції з приготування пересадкових заквасок, що ускладнює процес виробництва цільового продукту та підвищує вірогідність забруднення сторонньою мікрофлорою.

Завданням винаходу, що пропонується, є підвищення біологічної активності концентрату та інтенсифікація технологічного процесу виробництва ряжанки.

Це досягається тим, що згідно з винаходом одержання бактеріального концентрату передбачає приготування живильного середовища, внесення посівного матеріалу, що містить термофільні молочнокислі стрептококи, культивування, відокремлення біомаси, змішування її з захисним середовищем, заморожування і сушіння, при цьому як живильне середовище застосовують протосубтиліновий гідролізат білків знежиреного молока з додаванням стимуляторів росту, як посівний матеріал використовують відібрані за здатністю до синтезу в'язких полімерів, стійкістю до інгібіторів росту та зниження холестерину штами *Streptococcus thermophilus* ВКПМ В-4464, ВКПМ В-7773 і ВКПМ В-7774 в співвідношенні між ними (1 - 2) 1 : 1. Характеристика штамів наведена в таблиці 1.

Штами термофільних стрептококів, що використовуються в цьому способі, мають високу активність згортання молока та низьку границю кислототворення, сприяють утворенню чистого кисломолочного смаку і гомогенної в'язкої консистенції. В результаті підвищеної здатності штамів до синтезу в'язких сполук підвищується їх стійкість при сублімації, що має велике значення для підвищення активності концентрату. Залучення до складу посівного матеріалу цих штамів дозволяє підвищити біологічний потенціал концентрату та цільового продукту за рахунок їх стійкості до інгібіторів росту - жовчі, хлориду натрію та фенольних сполук. Використання штамів *S. thermophilus* ВКПМ В-4464 і В-7774 обумовлює зниження рівню холестерину в цільовому продукті, підвищуючи таким чином його лікувально-профілактичні властивості.

Запропоноване співвідношення між штамми *S. thermophilus* ВКПМ В-4464, ВКПМ В-7773 і ВКПМ В-7774 - (1 - 2) 1 : 1 - є оптимальним, оскільки воно забезпечує високий рівень біологічної активності та необхідні органолептичні показники. При співвідношенні 1 : 3 1 : 1 здатність закваскової культури до зниження рівню холестерину при ферментації послаблюється та погіршується консистенція готового продукту.

Застосування знежиреного молока, гідролізованого протосубтиліном, як основи живильного середовища на відміну від молочної сироватки

підвищує вихід біомаси термофільних стрептококів за рахунок більшої концентрації органічного азоту і збалансованості амінокислотного складу, а також гарантує стабільність технологічного процесу виробництва концентрату. Бактеріальний концентрат, одержаний згідно з цим способом, не потребує додаткових операцій з активізації та розмноження, тобто він є заквасковим препаратом безпосереднього використання, що дозволяє інтенсифікувати технологічний процес виробництва ряжанки.

Спосіб здійснюється таким чином.

Для приготування живильного середовища сухе знежирене молоко в кількості 30г на 1дм³ розчиняють у водопровідній воді, встановлюють рН (6,8 ± 1), підігрівають до температури 55°C, вносять 0,02% ферментного препарату протосубтилін ТЗХ та видержують при цій температурі протягом 2 - 3 годин. До гідролізату додають лимоннокислий натрій (1%), кукурудзяний екстракт, попередньо розведений водою 1 : 1 (2%), сірчаноокислий марганець (0,016%). В середовищі встановлюють рН (7,6 ± 0,1) 30%-ним розчином гідроксиду натрію та стерилізують його при температурі (121 ± 2)°C протягом (30,0 ± 0,5) хвилин. Активна кислотність живильного середовища після стерилізації повинна бути (6,8 ± 0,1) од рН. Середовище охолоджують до (37 ± 1)°C та вносять 1% стерильного знежиреного молока.

Інокулянт молочнокислих стрептококів *S. thermophilus* готують на стерильному знежиреному молоці шляхом культивування трьох штамів (ВКПМ В-4464, ВКПМ В-7773 і ВКПМ В-7774) у співвідношенні 1 : 1 : 1 з посівною дозою 0,5% кожного при (37 ± 1)°C протягом (12 ± 2) годин.

В живильне середовище вносять 3% культури термофільних молочнокислих стрептококів та культивують при температурі (37 ± 1)°C протягом 9 - 10 годин. Накопичення біомаси проводять з періодичною або безперервною нейтралізацією культуральної рідини 25%-ним водним розчином аміаку до активної кислотності (6,5 ± 0,1) од рН. При періодичній нейтралізації перше розкислення проводять через 3 години, потім через кожні 1,5 - 2,5 години. Після закінчення процесу культуральну рідину охолоджують до температури (12 ± 2)°C. Біомасу відокремлюють від культуральної рідини на суперцентрифузі та змішують з захисним середовищем у співвідношенні біомаса : захисне середовище рівним 1 : 1 - 2. До складу захисного середовища входять сахароза або цукор та натрій лимоннокислий в кількості 10 і 5% відповідно. Суспензію клітин розливають в стерильні кювети шаром 5 - 7мм, заморожують в морозильній шафі при температурі мінус 30 - 40°C протягом 14 - 18 годин. Після цього суспензію висушують в сублімаційній сушарці з початковою температурою процесу мінус (25 ± 2)°C та кінцевою - (30 ± 2)°C протягом 16 - 20 годин.

Сухий концентрат роздрібнюють у порошок та фасують у флакони або пакети. В 1г сухого концентрату міститься більше ніж 5*10¹⁰ КУО *S. thermophilus*. Стабільність властивостей концентрату зберігається тривалий час та визначається температурою зберігання - 12 місяців при мінус 18°C.

Приклади здійснення способу

Приклад 1 Для приготування живильного середовища 3кг сухого молока розчиняють в 100л водопровідної води, підігрітої до температури 43°C, та встановлюють рН 6,8. Відновлене молоко підігривають до температури 55°C та вносять протосубтілін ГЗХ в кількості 20г на 100л. Фермент завчасно активізують у водопровідній воді, так щоб масова частка його в розчині складала 5%, при температурі 25°C протягом 30 хвилин. Гідроліз молока проводять при температурі 55°C протягом 2 годин. В гідролізоване молоко вносять (із розрахунку на 100л) 1кг тризаміщеного лимоннокислого натрію, 2л кукурудзяного екстракту, розведеного водопровідною водою 1 : 1, та 16г сірчанокислого марганцю, встановлюють рН 7,6. Середовище стерилізують при 121°C протягом 30 хвилин, охолоджують до 37°C. Активна кислотність середовища після стерилізації має бути 6,8 од рН.

Інокулянт молочнокислих бактерій *S. thermophilus* готують на стерильному знежиреному молоці шляхом культивування 3 штамів (ВКПМ В-4464, ВКПМ В-7773 і ВКПМ В-7774) у співвідношенні 1 : 1 : 1 з посівною дозою 0,5% кожного при температурі 37°C протягом 12 годин.

В живильне середовище вносять 3л інокуляту термофільних стрептококів, 1л стерильного молока та старанно перемішують. Накопичення біомаси проводять з нейтралізацією культуральної рідини 25%-ним водним розчином аміаку до активної кислотності 6,5 од рН через кожні 2 години. Після закінчення процесу культуральну рідину охолоджують до температури 12°C та концентрують біомасу на суперцентрифугу. Біомасу змішують у співвідношенні 1 : 1 із стерильним водним розчином захисного середовища, до складу якого входять в г/дм³ сахароза - 10, натрій лимоннокислий - 5.

Суспензію клітин розливають в стерильні кювети шаром 5мм, заморожують при температурі мінус 35°C протягом 18 годин та висушують у сублімаційній сушарці при температурі від мінус 25 до плюс 30°C протягом 20 годин.

Сухий бактеріальний концентрат містить в 1г $3,6 \cdot 10^{11}$ КУО, згортає 1л стерильного знежиреного молока за 4,5 години, знижуючи при цьому вміст холестерину на 20%.

Приклад 2 Спосіб здійснюють аналогічно прикладу 1 за винятком того, що при приготуванні інокуляту встановлюють співвідношення між штамми ВКПМ В-4464, ВКПМ В-7773 і ВКПМ В-7774 рівним 2 : 1 : 1. Чисельність термофільних стрептококів в 1г сухого бактеріального концентрату складає $4,0 \cdot 10^{11}$ КУО, активність при сквашуванні 1л стерильного знежиреного молока 4,0 години, зниження вмісту холестерину - на 15%. Продукт, одержаний в результаті ферментації цим концентратом, має більш густу та в'язку консистенцію.

Приклад 3 Спосіб здійснюють аналогічно прикладу 1 за винятком того, що одержану біомасу змішують із стерильним водним розчином захисного середовища у співвідношенні 1 : 2. В результаті одержують бактеріальний концентрат, який містить в 1г $3,0 \cdot 10^{11}$ КУО стрептококів. Його актив-

ність дорівнює 5 год, рівень зниження холестерину - на 22%, а термін зберігання сухого бактеріального концентрату подовжується на 2 місяці.

Приклад 4 Спосіб здійснюють аналогічно прикладу 1 за винятком того, що штамми ВКПМ В-4464, ВКПМ В-7773 і ВКПМ В-7774 беруть у співвідношенні 1 : 3 : 1. Одержують сухий бактеріальний концентрат, що в 1г містить $4,0 \cdot 10^{11}$ КУО термофільних стрептококів, з нижчою біологічною активністю. Продукт, виготовлений з застосуванням цього концентрату має менш густу консистенцію, а вміст холестерину знижується лише на 8%.

Порівняльна характеристика бактеріальних концентратів, виготовлених за прототипом і за прикладами 1 - 4, наведена в таблиці 2.

Таким чином, запропонований спосіб дозволяє одержувати бактеріальний концентрат з підвищеною біологічною активністю для безпосереднього використання при виробництві ряжанки гарантованої високої якості.

Таблиця 1

Властивості штамів *Streptococcus thermophilus*, що використовуються для одержання бактеріального концентрату

Показник	Штами <i>S. thermophilus</i>		
	ВКПМ В-4464	ВКПМ В-7773	ВКПМ В-7774
Молокозгортаюча активність при інокуляції 3%, год	3,5 - 4,0	3,5 - 4,0	4,0
Характер згустку	щільний, в'язкий		
Границя кислотоутворення, °Т	94	110	110
Ріст в гідролізованому молоці з жовчею, %			
20	+	+	+
40	-	-	-
Ріст в гідролізованому молоці з NaCl, %			
2	+	+	+
4	-	-	-
Ріст в молоці з 0,1% метипенової сині	+	+	+
Здатність до зниження вмісту холестерину в молоці, %	23,5	4,0	20,3
В'язкість згустка знежиреного молока при градієнті швидкості зсуву 48с ⁻¹ , Па*с	0,610	0,370	0,410

Примітка "+" - позитивний результат,
 "-" - негативний результат

Таблиця 2

Порівняльна характеристика концентратів, виготовлених за відомим та за запропонованим способами

Показники	Спосіб				
	відомий	за прикладом 1	за прикладом 2	за прикладом 3	за прикладом 4
Вміст бактеріальних клітин в 1г концентрату, КУО	$1,0 \cdot 10^{11}$	$3,6 \cdot 10^{11}$	$4,0 \cdot 10^{11}$	$3,0 \cdot 10^{11}$	$4,0 \cdot 10^{11}$
Спосіб застосування	через закваску	пряме внесення			
Молокозгортуюча активність при внесенні концентрату					
1г в 1л	-	4,5	4,0	5,0	4,5
1г в 300л	10 - 12	-	-	-	-
5г в 1000л	-	6,0	6,0	6,0	6,0
В'язкість згустка знежиреного молока при градієнті швидкості зсуву 48 с^{-1} , Па*с	0,135	0,425	0,540	0,415	0,380
Здатність до зниження вмісту холестерину в молоці, %	-	20	15	22	8
Термін зберігання концентрату, місяць					
при 3 - 10°C	3	6	6	8	6
при -18°C	-	12	12	12	12