



УКРАЇНА

(19) UA (11) 20506 (13) C2

(51) 7 C12N1/20, A23C9/12,
C12P39/00, A23C9/127МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ БАКТЕРІАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ "БІОЛАКТИН" ТА СПОСІБ ВИРОБНИЦТВА КИСЛОМОЛОЧНОГО ПРОДУКТУ З ЙОГО ВИКОРИСТАННЯМ**

(21) 96125003

(22) 31 12 1996

(24) 15 10 2001

(46) 15 10 2001, Бюл. № 9, 2001 р

(72) Отт Валентина Дмитрівна, Янковський Дмитрій Станіславович, Димент Галина Семенівна, Потребчук Олена Петрівна, Товкачевська Людмила Дмитрівна, Місник Валентина Петрівна, Коваленко Галина Борисівна

(73) ІНСТИТУТ ПЕДІАТРІЇ, АКУШЕРСТВА ТА ГІНЕКОЛОГІЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ, ТОВ - ФІРМА "О Д. ПРОЛІСОК"

(56) Препарат сухой бифидобактерии и молочнокислых бактерий "Бифилакт" Авторское свидетельство СССР № 1351560, МКИ А 23 С 9/12, 1987 г

(57) 1 Способ получения бактериального препарата, предусматривающий приготовление питательной среды на молочной основе, приготовление и внесение в питательную среду посевного материала, содержащего бактерии из родов *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* и *Lactococcus*, накопление бактериальной массы, отделение ее от среды культивирования, смешивание бактериальной

массы с защитной средой, замораживание и высушивание, отличающийся тем, что в состав бактериального препарата из рода *Bifidobacterium* вводят штаммы видов *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*, из рода *Lactobacillus* дополнительно вводят штаммы видов *Lb. helveticus*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, а при приготовлении посевного материала предварительно полученный консорциум молочнокислых бактерий соединяют с консорциумом бифидобактерий в соотношении 1:3

2 Способ производства кисломолочного продукта с использованием бактериального препарата, предусматривающий приготовление молочной смеси, ее гомогенизацию, тепловую обработку, охлаждение до температуры заквашивания, внесение закваски, содержащей бифидобактерии, сквашивание, перемешивание, охлаждение и розлив, отличающийся тем, что в качестве бактериальной закваски используют бактериальный препарат, полученный способом по п.1, состоящий из консорциумов бифидобактерий и молочнокислых бактерий, взятых в соотношении 3:1, а процесс сквашивания молочной смеси проводят при температуре 32-34°C до кислотности 70-80°Т

Изобретение относится к биотехнологии и может быть использовано в производстве лечебно-профилактических бактериальных препаратов и кисломолочных продуктов для детей раннего возраста

Известен способ получения препарата молочнокислых бактерий, предусматривающий сквашивание молочной основы, приготовленной на обезжиренном молоке с содержанием сухих веществ 16-18 мас. % и 0,6-0,8 мас. % лимоннокислого натрия, консорциумом молочнокислых культур *Ld. acidophilus* ВКПМ В-6007, обогащение ее биомассой кефирных грибов, прогретой при температуре 74-82°C в течение 15-20 мин., внесенной в количестве 100-200 мл на 1 л биомассы *Lb. acidophilus*, замораживание и сублимационную сушку (патент России №2001580, А23С 9/12, С12Н 1/20, 1993)

В одном грамме бакпрепарата, получаемого данным способом, содержится не менее 10⁸ жи-

вых клеток ацидофильных бактерий и 3-5 мг полисахарида кефирных грибов. Препарат характеризуется антагонистической активностью в отношении отдельных культур условно-патогенных бактерий и, благодаря этому, рекомендуется для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний у людей

Недостатком способа является ограничение состава препарата одним видом молочнокислых бактерий, что препятствует концентрированию в препарате широкого спектра лечебных свойств. Кроме того, использование в качестве защитной среды и источника микробных полисахаридов специально обработанной биомассы кефирных грибов, значительно удорожает и усложняет способ получения бакпрепарата

Известен также способ производства закваски "Наринэ" для получения кисломолочного концентрата, предусматривающий стерилизацию

обезжиренного молока, охлаждение до температуры заквашивания, внесение закваски, состоящей из штаммов *Lb acidophilus*, сквашивание в течение 47-49 ч до кислотности не более 270-280°Т с внесением после прохождения lag-фазы аминокислот в количестве не более 25 мг%, выделение жидкой фракции продукта жизнедеятельности микроорганизмов и сублимационную сушку полученных жидкой и белковой фракций (патент России №2001578, А23С 9/12, С12Н 1/20, 1993)

Закваска отличается высокой антагонистической активностью в отношении болезнетворных микроорганизмов. Недостатками способа является высокая кислотность закваски, длительный процесс культивирования и ограничение состава одним видом молочнокислых бактерий, что снижает эффективность бакпрепарата.

Наиболее близким по технической сущности является способ получения сухого препарата бифидобактерий и молочнокислых бактерий "Бифилакт", предусматривающий приготовление питательной среды на основе молока, гидролизованного протосубтилином, приготовление и внесение в питательную среду посевного материала, содержащего (7-9)% вторичной культуры бифидобактерий вида *Bifidobacterium adolescentis* и (0,005-0,020)% молочнокислых бактерий видов *Lactobacillus acidophilus*, *Lactococcus lactis* biovar *diacetylactis*, накопление бактериальной массы, отделение ее от культуральной среды, приготовление защитной среды, смешивание бактериальной массы с защитной средой, замораживание и сушку (ТУ 49/016-85). Препарат сухой бифидобактерий и молочнокислых бактерий "Бифилакт" - прототип (авт. св. СССР № 1351560, МКИ А23С 9/12, 1987).

Бакпрепарат содержит в одном грамме 1-3 млрд живых клеток бифидобактерий и до 1 млрд молочнокислых бактерий. Однако такая концентрация микроорганизмов является недостаточной для получения бакпрепарата с высоким лечебным эффектом. Кроме того, технология приготовления "Бифилакта" способствует накоплению в препарате продуктов глубокого гидролиза белка и щелочных продуктов, вызывающих у детей аллергию, что препятствует применению "Бифилакта" для непосредственного приема. Еще одним недостатком препарата является его ограниченный видовой состав, снижающий спектр физиологически полезных свойств.

В основу изобретения поставлена задача создания способа получения бактериального препарата "Биолактин", в котором путем расширения видового состава микроорганизмов и изменения соотношения между ними, обеспечивается увеличение концентрации клеток пробиотиков и повышение антагонистической и адгезивной способностей бакпрепарата.

Поставленная задача решается тем, что в способе получения бактериального препарата "Биолактин", предусматривающем приготовление питательной среды на молочной основе, приготовление и внесение в питательную среду посевного материала, содержащего бактерии из родов *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* и *Lactococcus*, согласно изобретению в состав бакпрепарата из рода *Bifidobacterium* введены штаммы видов *B. bifidum*, *B. longum* и *B. infantis*, из рода *Lactobacillus* допол-

нительно вводят штаммы видов *Lb. casei*, *Lb. plantarum* и *Lb. helveticus*, при этом предварительно полученный консорциум молочнокислых бактерий соединяют с консорциумом бифидобактерий в соотношении 1:3.

Предлагаемый способ предусматривает использование в составе бактериального препарата трех видов бифидобактерий *B. bifidum*, *B. longum* и *B. infantis*. Это обусловлено тем, что специально проведенные исследования показали постоянное присутствие данных видов бифидобактерий в микробиоценозе кишечника здоровых детей раннего возраста. При этом отбирают штаммы, выделенные из кишечника здоровых детей первого года жизни, обладающие высокой антагонистической активностью в отношении условно патогенных микроорганизмов, адгезионной способностью в отношении эпителия кишечника и биологически сочетающиеся с другими видами бифидобактерий молочнокислыми бактериями.

Введение в состав бакпрепарата одновременно трех видов бифидобактерий позволяет повысить его лечебно-профилактические свойства.

Кроме того, в результате проведенных исследований установлено, что консорциум бактерий видов *B. bifidum*, *B. longum* и *B. infantis* значительно превосходит моновидовые культуры бифидофлоры активностью развития в молоке, концентрацией живых клеток, кислотосинтезом, антагонистической и адгезионной способностями.

Свойство используемых бифидобактерий и их консорциума приведены в табл. 1.

Согласно предлагаемому способу из молочнокислых бактерий в состав бакпрепарата дополнительно вводят штаммы из видов *Lactobacillus casei*, *Lb. Plantarum*, *Lb. Helveticus* и *Streptococcus Salivarius* subsp. *thermophilus*. Штаммы лактобактерий отбирают по численности клеточных популяций, антагонистическим, адгезионным, полисахаридосинтезирующим свойствам, кислоторезистентности, способности развиваться в средах, содержащих повышенные концентрации желчи и фенола, биологической сочетаемости с остальными компонентами бакпрепарата.

Использование дополнительных молочнокислых бактерий, обладающих вышеперечисленными свойствами, способствует повышению антагонистической, адгезионной, полисахаридсинтезирующей способностей бакпрепарата, увеличению в нем концентрации живых клеток целебных микроорганизмов, повышению монокосвертывающей активности.

Свойство используемых штаммов молочнокислых бактерий приведены в табл. 2.

Предлагаемый способ предусматривает предварительное получение консорциума бифидобактерий и консорциума молочнокислых бактерий, последующее соединение их в соотношении 3:1. Такое соотношение является наиболее благоприятным для сохранения состава и свойств бактериального препарата.

Изменение соотношения в сторону увеличения количества молочнокислых бактерий приводит к снижению антагонистической и адгезионной способности бакпрепарата и накоплению в нем и молочном продукте, получаемом с его при-

менением, излишнего количества молочной кислоты

Увеличение концентрации бифидобактерий сопровождается снижением молокосвертывающей и полисахаридсинтезирующей способностей бакпрепарата и снижением в нем концентрации бактериальных клеток

Получение бактериального препарата "Биолактин" осуществляется следующим образом. Вначале готовят консорциумы молочнокислых бактерий и бифидобактерий. Для получения консорциума молочнокислых бактерий, отобранные по физиологическим и биотехнологическим свойствам штаммы всех используемых видов соединяют в равных соотношениях и пересевают 3-5 раз в стерильное молоко с периодичностью пересевов 10 суток и длительностью культивирования при оптимальной температуре роста 18-24 часа

Одновременно получают консорциум бифидобактерий. С этой целью все отобранные штаммы бифидобактерий соединяют в равных соотношениях и также пересевают 3-5 раз в стерильное молоко с периодичностью пересевов 5 суток и длительностью культивирования 36-48 часов

Полученный консорциум молочнокислых бактерий соединяют с консорциумом бифидобактерий в соотношении 1:3 и культивируют в стерильном молоке в течение 18-24 ч при температуре 32-34°C. Полученную таким образом бактериальную композицию используют в качестве посевного материала при получении бактериального препарата "Биолактин"

В питательную среду, представляющую собой молочную основу, обогащенную буферными солями и стимуляторами роста, вносят 3-5 % посевного материала и проводят культивирование в течение 12-16 ч при температуре 32-34°C. Накопленную бактериальную массу отделяют от культуральной среды центрифугированием, смешивают в соотношении 1:1 с защитной средой, представляющей собой водный раствор сахарозы, и высушивают методом сублимации

Предлагается также способ производства кисломолочного продукта для лечебно-диетического питания детей раннего возраста

Известен способ производства кисломолочного продукта "Витапакт", предусматривающий приготовление смеси молока и биологически активных компонентов, гомогенизацию и пастеризацию смеси, охлаждение ее до температуры заквашивания, внесение закваски, состоящей из смеси ацидофильной палочки, кефирной закваски и пейконостоков, сквашивание, охлаждение и разлив (ТУ 10 16 УССР 85-89)

Продукт обогащен живыми клетками молочнокислых бактерий, устойчивых к антибиотикам, что позволяет использовать его в период антибиотикотерапии с целью профилактики дисбактериозов. Однако концентрация живых клеток в продукте не является достаточной для надления его высокими лечебно-диетическими свойствами, а применение в составе закваски газообразующих микроорганизмов нежелательно для питания детей с дисфункциями пищеварительного тракта

Известен также способ получения биологически активного кисломолочного продукта "Ацидолакт-Наринэ", предусматривающий термообработку молока при температуре 95-140°C, охлаждение его до температуры заквашивания, внесение закваски, состоящей из специально подобранных штаммов *Lactobacillus acidophilus* с введением или без введения микроорганизмов из вида *Lactobacillus salivarius* и сквашивание молока до кислотности 60-280°Т (патент Российской Федерации № 2031586, А23С 9/12, 9/123, С12N 1/20, 1995)

Продукт характеризуется высокой антагонистической активностью в отношении условно патогенных микроорганизмов. Однако ограничение его бактериального состава только одним-двумя видами молочнокислых палочек, отсутствие в нем бифидобактерий и кислотность, достигающая 280°Т, препятствует эффективному применению его для коррекции микробиоценоза кишечника детей раннего возраста

Наиболее близким к заявляемому является способ получения кисломолочного продукта "Бифипин", предусматривающий приготовление закваски на основе чистых культур бифидобактерий, внесение 10 % закваски в подготовленную молочную смесь, сквашивание при температуре 37°C до кислотности 55-65°Т. Для получения молочной смеси молоко предварительно обогащают декстринмальтозой, сахарозой, растительными жирами, витаминами и минеральными веществами. Готовый продукт представляет собой однородную массу с легким, хлопьевидным нарушенным сгустком и содержит до $5 \times 10^8/\text{см}^3$ живых клеток бифидобактерий (авт. свид. СССР № 1351560, А23С 9/12, 1987) - прототип

Продукт, получаемый известным способом, содержит высокую концентрацию живых клеток бифидобактерий, являющихся наиболее важным компонентом кишечного биоценоза детей раннего возраста и рекомендуется для лечебно-диетического питания детей первого года жизни

Недостатками способа являются большая трудоемкость технологического процесса, необходимость использования больших доз закваски и создания асептических условий производства, а использование в составе закваски только одного вида пробиотика снижает лечебную эффективность продукта

В основу изобретения поставлена задача создания способа производства кисломолочного продукта для лечебно-диетического питания детей раннего возраста, в котором путем использования в качестве бактериальной закваски бакпрепарата "Биолактин" и изменение технологических режимов производства обеспечивает повышение в продукте концентрации и расширение видового спектра живых клеток пробиотических микроорганизмов и физиологически полезных продуктов их метаболизма, за счет чего повышаются лечебно-диетические свойства кисломолочного продукта

Поставленная задача решается тем, что в способе производства кисломолочного продукта, предусматривающем приготовление молочной смеси, тепловую обработку, охлаждение до температуры заквашивания, внесение закваски, содержащей бифидобактерии, сквашивание, перемешивание и розлив, согласно изобретению в ка-

честве бактериальной закваски используют бакпрепарат "Биолактин", в состав которого входят консорциумы бифидобактерий и молочнокислых бактерий в соотношении 3:1, а процесс сквашивания молочной основы проводят при температуре 32-34°C до кислотности 70-80°Т

Предлагаемый способ производства кисломолочного продукта предусматривает использование в качестве бактериальной закваски бакпрепарат "Биолактин", представляющий собой высококонцентрированную многовидовую ассоциацию бифидобактерий и молочнокислых бактерий. Расширение видового состава пробиотических бактерий, используемых при приготовлении продукта, позволяет повысить его лечебно-профилактические свойства.

Процесс сквашивания молочной основы осуществляют при температуре 32-34°C. Это способствует равномерному развитию в молочной основе всех ингредиентов бакпрепарата, различающихся температурным оптимумом развития клеток.

Снижение температуры ниже 32°C приводит к уменьшению концентрации в продукте живых клеток бифидобактерий, термофильных видов лактобацилл и стрептококков, что снижает лечебно-диетические качества продукта.

Повышение температуры выше 34°C ингибирует рост мезофильных видов лактобацилл и лактококков, что приводит к ухудшению сенсорных свойств, консистенции продукта и нарушает его бактериальный состав.

Сквашивание молочной основы проводят до достижения кислотности 70-80°Т. При достижении такого уровня кислотности продукта в нем накапливается максимальное количество живых клеток пробиотиков, а также вкусовых компонентов, физиологически ценных метаболитов. Кроме того, при указанной кислотности завершается процесс формирования консистенции кисломолочного продукта.

Увеличение кислотности выше 80°Т приводит к появлению в продукте кислого вкуса и вызывает гибель клеток отдельных видов микроорганизмов.

Уменьшение кислотности ниже 70°Т вызывает уменьшение в продукте концентрации клеток бактерий, ухудшение вкуса и консистенции.

Способ производства кисломолочного продукта осуществляют следующим образом.

Вначале готовят молочную смесь. С этой целью в резервуар с молоком вносят предварительно подготовленные компоненты: сухую гуманизирующую добавку, свекловичный сахар, L-цистин, глицерофосфат железа, растительное масло и витамин А. Смесь гомогенизируют, пастеризуют и охлаждают до температуры 32-34°C. При указанной температуре в молочную смесь вносят 3-5% закваски, приготовленной из бакпрепарата "Биолактин". Для этого одну дозу бакпрепарата растворяют в небольшом количестве стерильного молока и вносят в 500-1000 кг пастеризованного или стерилизованного молока при температуре 32-34°C. Смесь молока с бакпрепаратом тщательно перемешивают и оставляют до образования сгустка. Готовую закваску используют в производстве кисломолочного продукта.

Сквашивание молочной смеси осуществляют при температуре 32-34°C в течение 8-10 ч. После образования сгустка кислотностью 70-80°Т продукт перемешивают, охлаждают и направляют на розлив.

Изобретение поясняется примерами.

Пример 1. Получение сухого бактериального препарата "Биолактин".

Вначале получают консорциумы бифидобактерий и молочнокислых бактерий.

Для приготовления консорциума бифидобактерий в стерильное обезжиренное молоко вносят в равных количествах культуры следующих штаммов:

Bifidobacterium bifidum ВКПМ В-5795

Bifidobacterium longum ВКПМ В-4557

Bifidobacterium longum ВКПМ В-4635

Bifidobacterium infantis В-56

Суммарное количество инокулята составляет 5%.

Инокулированное молоко тщательно перемешивают и выдерживают при температуре 37°C в течение 36 ч. Полученный консорциум бифидофлоры пересевают три раза в стерильное молоко с периодичностью пересевов 5 суток. После каждого пересева проверяют стабильность состава и свойств консорциума.

Для получения консорциума молочнокислых бактерий в стерильное обезжиренное молоко вносят равные количества культур следующих штаммов молочнокислых бактерий:

Lb. acidophilus ВКПМ В-5254

Lb. acidophilus ВКПМ В-2846

Lb. helveticus ВКМ 842

Lb. casei ВКПМ В-5724

Lb. casei ВКПМ В-3960

Lb. plantarum ВКПМ В-5494

Lb. plantarum ВКПМ В-6496

Lact. lactis ssp. *lactis*

biovar *diacetylactis* ВКПМ В-4303

Str. salivarius ssp.

thermophilus ВКПМ В-3386

Общее количество инокулята составляет 3%. Смесь молока с закваской перемешивают и оставляют при температуре 32°C на 18 ч. Полученный консорциум лактобактерий пересевают три раза в стерильное молоко с периодичностью 10 суток и контролем после каждого пересева сохранения состава и свойств бактериальной композиции.

Приготовленный консорциум бифидобактерий соединяют с консорциумом молочнокислых бактерий в соотношении 3:1 и культивируют в стерильном молоке в течение 18 ч при температуре 34°C. Полученную таким образом многоштаммовую культуру используют в качестве посевного материала при приготовлении бактериального препарата "Биолактин".

Для приготовления питательной среды берут 30 кг сухого обезжиренного молока, растворяют его в небольшом количестве водопроводной воды с температурой 45°C, доводят массу до 1000 кг. Восстановленное молоко стерилизуют при температуре 121°C в течение 15 мин. В стерилизованное молоко вносят в виде стерильных растворов 1% лимоннокислого натрия трехзамещенного, 2% сахарозы и 5% гидролизованного казеина. В под-

готовленную среду вносят 3% посевного материала и проводят культивирование в течение 12 ч при температуре 34°C

Накопленную бактериальную массу отделяют от среды центрифугированием и смешивают в соотношении 1:1 с защитной средой, представляющей собой 10% водный раствор сахарозы

Суспензию клеток в защитной среде высушивают методом сублимации при следующих режимах: температура замораживания - минус 40°C, продолжительность замораживания - 18 ч, начальная температура сушки - минус 38°C, конечная температура сушки - плюс 28°C, продолжительность сушки - 24 ч

Сухой препарат "Биолактин" используют для непосредственного приема в лечебно-профилактических целях или при получении кисломолочного продукта для лечебно-диетического питания детей раннего возраста

Характеристика полученного бакпрепарата приведена в табл. 3

Пример 2. Получение жидкого бактериального препарата "Биолактин"

Для приготовления консорциума бифидобактерий в стерильное обезжиренное молоко вносят 3% смеси культур нижеперечисленных штаммов бифидобактерий, взятых в равных количествах

Bifidobacterium bifidum ВКПМ В-5799
Bifidobacterium bifidum ВКПМ В-5795
Bifidobacterium longum ВКПМ В-4557
Bifidobacterium infantis В-47
Bifidobacterium infantis В-33/106

Инокулированное молоко перемешивают и выдерживают при температуре 36°C в течение 48 ч. Полученный консорциум бифидобактерий пересевуют пять раз в стерильное молоко периодически пересевов 5 суток и проверкой после каждого пересева сохранения состава и свойств консорциума

Для приготовления консорциума молочнокислых бактерий в стерильное обезжиренное молоко вносят равные количества культур нижеперечисленных штаммов молочнокислых бактерий при суммарной дозе инокулята 5%

Lb. acidophilus ВКПМ В-5863
Lb. helveticus ВКМ 846
Lb. casei ВКПМ В-4542
Lb. plantarum ВКПМ В-6490
Lb. plantarum ВКПМ В-5494
Lact. lactis ssp. lactis
 biovar diacetylactis ВКПМ В-2377
Str. salivarius ssp.
thermophilus ВКПМ В-2406
Str. salivarius ssp.
thermophilus ВКПМ В-3386

Заквашенное молоко перемешивают и оставляют при температуре 34°C на 24 ч. Полученный консорциум молочнокислых бактерий пересевуют пять раз в стерильное молоко с периодичностью 10 суток и проверкой после каждого пересева сохранения состава и свойств ассоциированной культуры

Полученный консорциум бифидобактерий соединяют с консорциумом молочнокислых бактерий в соотношении 3:1 и культивируют в стерильном молоке в течение 24 ч при температуре 32°C

Приготовленную таким образом ассоциативную культуру бифидобактерий и молочнокислых бактерий используют в качестве посевного материала при производстве бактериального препарата "Биолактин"

Питательную среду, используемую для наращивания биомассы лакто-бифидного консорциума, готовят следующим образом. Берут 15 кг сухого обезжиренного молока, растворяют его в небольшом количестве теплой водопроводной воды, затем доводят массу до 500 кг. Восстановленное молоко стерилизуют при температуре 121°C в течение 10 мин. В стерилизованное молоко вносят в виде стерильных растворов 1% лимоннокислого натрия трехзамещенного, 2% сахарозы и 5% гидролизата казеина. В подготовленную среду вносят 5% посевного материала и проводят культивирование в течение 16 ч при температуре 32°C

Накопленную бактериальную массу отделяют от среды центрифугированием и смешивают в соотношении 1:1 с защитной средой, представляющей собой 20% водный раствор сахарозы

Жидкий препарат "Биолактин" используют непосредственно в лечебно-профилактических целях или в качестве заквасочного препарата при получении кисломолочного продукта для лечебно-диетического питания детей раннего возраста

Характеристика бакпрепарата приведена в табл. 3

Пример 3. Получение кисломолочного продукта для питания детей раннего возраста с использованием бактериального препарата "Биолактин"

К 779 кг молока с массовой долей жира 3,4% добавляют 17,9 кг сливок с массовой долей жира 35%. В молочную смесь вводят 27,1 кг сухой гуманизированной добавки СГД-2 и 18,4 кг свекловичного сахара, предварительно растворенных в питьевой воде. В небольшом количестве полученной смеси растворяют 0,11 кг L-цистина и 0,023 кг глицерофосфата железа. Общее количество воды, используемой для растворения компонентов, составляет 199,4 кг

Полученную смесь подогревают до температуры 55°C, после чего в нее вносят 7,5 кг рафинированного дезодорированного растительного масла и 0,0175 кг концентрата витамина А. Смесь гомогенизируют при давлении 15,0 мПа, затем пастеризуют при температуре 92°C с выдержкой 10 мин и охлаждают до температуры 32°C

При этой температуре в смесь вносят 3% закваски, приготовленной из бактериального препарата "Биолактин". С этой целью одну дозу (1 г сухого или 10 см³ жидкого) бакпрепарата растворяют в небольшом количестве стерильного молока и вносят в 500 кг стерилизованного молока. Смесь молока с бакпрепаратом перемешивают и оставляют при температуре 32°C на 10 ч до образования вязкого плотного сгустка кислотностью 70°Т

После внесения закваски в молочную смесь ее термостатируют при 32°C в течение 10 ч до образования сгустка кислотностью 80°Т, продукт перемешивают и направляют на розлив

Характеристика продукта приведена в табл. 4

Пример 4. Приготовление кисломолочного продукта проводят согласно примеру 3, однако сквашивание молочной смеси осуществляют при температуре 34°C до образования сгустка кислотностью 70°T

Характеристика продукта приведена в табл. 4

Пример 5. Приготовление кисломолочного продукта проводят согласно примеру 3, однако сквашивание молочной смеси осуществляют при температуре 33°C до образования сгустка кислотностью 75°T

Характеристика продукта приведена в табл. 4

В таблице 3 приведена сравнительная характеристика бактериальных препаратов, по-

лучаемых известным и предлагаемым способами. Бакпрепараты, получаемые предлагаемым способом, отличаются более широким спектром физиологически ценных микроорганизмов, повышенной концентрацией живых клеток пробиотиков, увеличенной антагонистической, адгезионной, полисахаридсинтезирующей, монокосвертывающей активностями.

Кисломолочные продукты, приготовленные с применением бакпрепарата "Биолактин", превосходят известный продукт широким видовым составом целебных микроорганизмов, повышенной концентрацией клеток пробиотиков, повышенной концентрацией бактериальных полисахаридов и ароматических веществ, улучшенными органолептическими свойствами (табл. 4)

Таблица 1
Свойства штаммов бифидобактерий и их консорциума, используемых в составе бакпрепарата

№	Показатель	Характеристика штаммов вида			Характеристика
		B.bifidum	B.longum	B.infantis	
1	Численность клеточных популяций после 24-час культивирования в молоке, КОЕ/см ³ не менее	2,0x10 ⁸	5,0x10 ⁸	1,5x10 ⁸	2,5x10 ⁹
2	Антагонистическая активность в отношении условно патогенных микроорганизмов (подавление роста тест-культур), %, не менее				
	E. coli	50	70	70	90
	Staph. aureus	60	60	60	90
	Ps. aeruginosa	50	50	50	80
	Sh. flexneri	40	50	50	70
	C. albicans	40	40	50	70
	S. typhimurium	50	50	40	60
	B. cereus	70	80	70	90
3	Адгезионная способность (индекс адгезивности), не менее	0,5	0,5	0,5	0,6
4	Кислотонакопление после 12-часовой ферментации молока, °T, не менее	45	40	45	60

Таблица 2
Свойства штаммов молочнокислых бактерий, используемых в составе бакпрепарата

№	Показатель	Характеристика штаммов вида					
		Lb. acidophilus	Lb. Helveticus	Lb. Casei	Lb. plantarum	S. salivarius ssp. thermophilus	L. Lactis ssp. lactis biovar diacetylactis
1	Численность клеточных популяций после 24-час культивирования в молоке, КОЕ/см ³ не менее	2,5x10 ⁸	2,5x10 ⁸	5,0x10 ⁸	4,5x10 ⁸	1,5x10 ⁸	2,0x10 ⁸

№ Показатель	Характеристика штаммов вида					
	Lb. acidophilus	Lb. Helveticus	Lb. Casei	Lb. plantarum	S. salivarius ssp. thermophilus	L. Lactis ssp. lactis biovar diacetylactis
2 Антагонистическая активность в отношении условно патогенных микроорганизмов (подавление роста тест-культур), %, не менее						
E coli	70	60	50	50	30	30
Staph aureus	50	50	40	40	40	30
Ps aeruginosa	50	50	40	40	40	30
Sh flexneri	60	50	40	40	40	30
C albicans	50	40	40	40	40	30
S typhimurium	60	50	40	40	40	30
B cereus	70	60	50	50	40	40
3 Адгезионная способность (индекс адгезивности), не менее	0,6	0,5	0,6	0,5	0,4	0,4
4 Синтез внеклеточных полисахаридов, %, не менее	0,7	0,5	0,3	0,3	1,0	0,5
5 Выживаемость клеток после двухчасовой выдержки в среде желудочного сока, %, не менее	60	50	60	60	40	30
6 Способность размножаться в средах, содержащих желчь и фенол	+	+	+	+	+	+

Таблица 3

Сравнительная характеристика кисломолочных продуктов, получаемых предлагаемым и известным способами

№ Показатели	Характеристика бакпрепарата		
	по прототипу	по примеру	по примеру
		1	2
1 Активность концентрата (время свертывания молока при внесении 0,5 г препарата в 1 л молока), г	12-16	5,5-6,0	5,5-6,0
2 Количество живых клеток в одном грамме бакпрепарата, КОЕ/г			
бифидобактерий	$(1-3) \times 10^9$	$8,8 \times 10^{10}$	$7,1 \times 10^{10}$
термофильных молочнокислых палочек	$5,0 \times 10^7$	$3,5 \times 10^{10}$	$4,0 \times 10^{10}$
мезофильных молочнокислых палочек	—	$1,2 \times 10^{11}$	$2,4 \times 10^{11}$
термофильных молочнокислых стрептококков	—	$9,2 \times 10^{10}$	$9,0 \times 10^{10}$
мезофильных молочнокислых стрептококков	$(0,1-1,0) \times 10^9$	$8,3 \times 10^{10}$	$7,9 \times 10^{10}$
3 Число видов пробиотиков	2	7	7
4 Полисахаридсинтезирующая способность, %	0,3-0,4	1,8-2,0	2,0-2,2
5 Адгезионная способность, индекс адгезивности	0,33-0,35	0,72-0,80	0,75-0,83

№	Показатели	Характеристика бакпрепарата		
		по прототипу	по примеру	по примеру
			1	2
6	Антагонистическая активность в отношении условно патогенных микроорганизмов (подавление роста клеток тест-культур), %			
	E coli		95-100	96-100
	Staph aureus		90-95	92-96
	Sh flexneri		72-80	78-85
	C albicans		70-85	70-85
	S typhimurium		82-85	84-88
	B cereus		90-95	95-100

Таблица 4

Сравнительная характеристика кисломолочных продуктов, получаемых предлагаемым и известным способами

№	Показатели	Характеристика продуктов			
		Известный ("Бифилин")	Продукт по примеру		
			3	4	5
1	Вкус и запах	Кисломолочный сладковатый с привкусом солодового экстракта	Чистый кисломолочный со слабым привкусом внесенных добавок		
2	Консистенция	Мелкохлопьевидная	Однородная, вязкая		
3	Число видов пробиотиков, содержащихся в продукте	1	7	7	7
4	Концентрация живых клеток пробиотиков, КОЕ/см ³	(2-5)х10 ⁹	7,5х10 ⁹	7,2х10 ⁹	7,8х10 ⁹
5	Содержание бактериальных полисахаридов, %	-	1,2	1,1	1,3
6	Содержание четырехуглеродных ароматических соединений (время окрашивания в щелочной среде), мин	-	5	5	5

Тираж 50 экз

Відкрите акціонерне товариство «Патент»
Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101
(03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03