



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 91609

(13) C2

(51) МПК (2009)

A23C 9/12

C12N 1/20

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

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ КИСЛОМОЛОЧНОГО ПРОДУКТУ "СИМБІВІТ ПРЕМІУМ"

1

(21) a200812954

(22) 07.11.2008

(24) 10.08.2010

(46) 10.08.2010, Бюл. № 15, 2010 р.

(72) ЯНКОВСЬКИЙ ДМИТРО СТАНІСЛАВОВИЧ,  
ДИМЕНТ ГАЛИНА СЕМЕНІВНА, ПОТРЕБЧУК  
ОЛЕНА ПЕТРІВНА(73) ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДА-  
ЛЬНІСТЮ ФІРМА "О.Д. ПРОЛІСОК"

(56) UA A 55913, 15.04.2003

UA C2 67660, 15.03.2006

UA U 28040, 16.10.2000

(57) Спосіб одержання кисломолочного продукту, що передбачає пастеризацію молочної основи, охолодження її до температури заквашування, внесення бактеріального концентрату, що містить біфідобактерії видів *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* і *Bifidobacterium adolescentis*, лактобацили виду *Lactobacillus plantarum*, молочнокислі стрептококи видів *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* і *Streptococcus*

2

*salivarius* subsp. *thermophilus*, пропіоновокислі бактерії видів *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* і *Propionibacterium acidipropionici* та оцтовокислі бактерії виду *Acetobacter aceti*, сквашування суміші, охолодження й розлив, який **відрізняється** тим, що в складі бактеріального концентрату з біфідобактерій виду *Bifidobacterium adolescentis* використовують штам *B. adolescentis* IMB B-7148, з лактобацил додатково використовують лізоцимсинтезуючі штами виду *Lactobacillus fermentum*, а з виду *Lactobacillus plantarum* використовують штам IMB B-7116, причому бактеріальний концентрат складається з двох компонентів, перший з яких містить біфідобактерії, лактобацили, пропіоновокислі й оцтовокислі бактерії, а другий - молочнокислі стрептококи родів *Streptococcus* і *Lactococcus* та оцтовокислі бактерії, при цьому перший і другий компоненти бактеріального концентрату вносять у молочну суміш у співвідношенні 2:1

Винахід відноситься до біотехнології й може бути використаний у молочній промисловості у виробництві кисломолочних продуктів із пробіотичними властивостями.

В останні роки, у зв'язку з неухильним поширенням серед населення дисбіозів (дисбактеріозів) і асоційованих з ними захворювань, зростає інтерес до розробки нових видів кисломолочних продуктів із пробіотичними властивостями, які містять живу фізіологічну мікрофлору, яка чинить позитивний вплив на здоров'я людини за допомогою оздоровлення його природної мікрофлори.

Відомо спосіб виробництва лікувально-профілактичного кисломолочного продукту, що передбачає стерилізацію молока, його звільнення від кисню шляхом барботажу вуглекислим газом, заквашування закваскою третьої генерації, яка містить біфідобактерії або лактобактерії, шляхом подачі закваски у ферментер під тиском, з наступним перемішуванням заквашеної суміші вуглекислим газом, сквашування, охолодження та фасування (Патент РФ №2023396, A23C9/12, 9/127, 1994).

Готовий продукт містить високу концентрацію клітин біфідобактерій або лактобацил. Недоліками способу є складність і тривалість технологічного процесу, необхідність готування трьох генерацій бактеріальної закваски й забезпечення для неї анаеробних умов росту. Обмеження складу закваски окремими штамами лактобацил або біфідобактерій знижує пробіотичну ефективність продукту.

Відомий спосіб виробництва кисломолочного продукту «Біовіт» передбачає нормалізацію молока за вмістом жиру, додаткове внесення сухого знежиреного молока й солодового екстракту, рослинної олії й альгінату натрію, гомогенізацію суміші, теплову обробку, охолодження до температури заквашування, внесення бактеріального препарату, що містить молочнокислі бактерії виду *Streptococcus thermophilus* і біфідобактерії виду *Bifidobacterium longum*, сквашування, охолодження й розлив (Патент України №30729A, A23C9/12, 2000).

Недоліком способу є те, що через необхідність внесення в молоко додаткових інгредієнтів, що вимагають спеціальної попередньої підготовки,

(13) C2

(11) 91609

(19) UA

значно ускладнюється виробництво кисломолочного продукту. Додатки, що використовуються, негативно позначаються на смакових якостях продукту, а обмеження складу препарату одним видом біфідобактерій не дозволяє забезпечити його високу пробіотичну ефективність.

Відомо також спосіб одержання кисломолочного продукту «Симбівіт», що передбачає нормалізацію, гомогенізацію, пастеризацію молока, охолодження його до температури заквашування, внесення бактеріального концентрату «Симбітер», що містить біфідобактерії, молочнокислі, пропіоновокислі й оцтовокислі бактерії видів: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* biovar *diacetylactis*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*, *Propionibacterium acidipropionici* і *Acetobacter aceti*, сквашування суміші, охолодження й фасування (Технологічна інструкція з виробництва кисломолочного продукту «Симбівіт» до ТУ У 19405739.19-98).

Продукт містить високу концентрацію клітин пробіотичних бактерій, має гарні смакові якості й гомогенну сметаноподібну консистенцію. Однак відомий спосіб не передбачає реалізацію пробіотичних властивостей лактобацил і додаткових видів біфідобактерій, що обмежує спектр його лікувально-профілактичних властивостей.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб одержання кисломолочного продукту «Симбівіт-М», що передбачає пастеризацію молочної основи, охолодження її до температури заквашування, внесення бактеріальної закваски або бактеріального концентрату на основі пробіотика «Симбітер-2», що містить біфідобактерії, молочнокислі, пропіоновокислі й оцтовокислі бактерії видів: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* biovar *diacetylactis*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus brevis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*, *Propionibacterium acidipropionici* і *Acetobacter aceti*, двостадійне сквашування суміші, охолодження й розлив (Патент України №28040, А23С9/12, С12Н1/20, 2000) - прототип.

Продукт містить високу концентрацію фізіологічно активних клітин пробіотичної мікрофлори й продуктів її метаболізму. Однак відомий спосіб передбачає використання в якості заквашувального препарату складного за складом й технологією виготовлення, 24-штамового пробіотика, що підвищує трудомісткість виробничого процесу й погіршує забезпечення його стабільності, а також не дозволяє одержати продукт із широким спектром стабільних пробіотичних властивостей.

Завданням винаходу є створення способу одержання кисломолочного продукту «Симбівіт преміум», у якому шляхом зміни видового й штамового складу бактеріального концентрату, а також способу його одержання й внесення в молочну

суміш забезпечується розширення спектра пробіотичних активностей продукту, зокрема підвищення антагоністичної, полісахаридсинтезуючої, вітаміносинтезуючої і гіпохолестеринемічної активностей й знижується трудомісткість його приготування.

Поставлене завдання вирішується тим, що в способі одержання кисломолочного продукту «Симбівіт преміум», що передбачає пастеризацію молочної основи, охолодження її до температури заквашування, внесення бактеріального концентрату, що містить біфідобактерії видів *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* і *Bifidobacterium adolescentis*, лактобацили виду *Lactobacillus plantarum*, молочнокислі стрептококи видів *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* і *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, пропіоновокислі бактерії видів *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* і *Propionibacterium acidipropionici*, а також оцтовокислі бактерії виду *Acetobacter aceti*, сквашування суміші, охолодження й розлив, згідно з винаходом у складі бактеріального концентрату з біфідобактерій виду *Bifidobacterium adolescentis* використовують штам *B. adolescentis* IMB B-7148, з лактобацил додатково використовують лізоцимсинтезуючі штами виду *Lactobacillus fermentum*, а з виду *Lactobacillus plantarum* використовують штам IMB B-7116, причому бактеріальний концентрат складається з двох компонентів, перший з яких містить біфідобактерії, лактобацили, пропіоновокислі й оцтовокислі бактерії, а другий - молочнокислі стрептококи родів *Streptococcus* і *Lactococcus* й оцтовокислі бактерії. При цьому при одержанні кисломолочного продукту перший і другий компоненти бактеріального концентрату вносять у молочну суміш у співвідношенні 2:1.

Пропонований спосіб передбачає використання в складі бактеріального концентрату з біфідобактерій виду *Bifidobacterium adolescentis* штаму *B. adolescentis* IMB B-7148, з лактобацил - додаткове використання лізоцимсинтезуючих штамів виду *Lactobacillus fermentum*, а з виду *Lactobacillus plantarum* - штаму IMB B-7116.

Штами лактобацил видів *Lactobacillus fermentum* і *Lactobacillus plantarum* і біфідобактерій виду *Bifidobacterium adolescentis*, що використовуються в складі бактеріального концентрату для виробництва кисломолочного продукту, ізолювані з кишечника здорових людей. Застосування спеціальних селективних методів дозволило підвищити стійкість ізолюваних штамів до шлункового соку й антагоністичну активність стосовно широкого спектра патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів і за рахунок цього підвищити пробіотичну ефективність кисломолочного продукту. Здатність лактобацил виду *Lactobacillus fermentum* синтезувати лізоцим, що відомий високими антимікробними властивостями, дозволяє підвищити антагоністичну активність пробіотичної флори продукту щодо патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. Як показали результати досліджень, пробіотичні властивості даних штамів біфідобактерій і лактобацил помітно підвищуються в їхньому консорціумі (табл. 1, 2).

Окрім того, введені до складу бактеріального концентрату штами лактобацил видів *Lactobacillus fermentum* і *Lactobacillus plantarum*, а також біфідобактерій виду *Bifidobacterium adolescentis* відрізняються здатністю знижувати в середовищі культивування вміст холестерину. Використання в складі кисломолочних продуктів штамів з такими властивостями є досить актуальним у сучасних умовах, оскільки на тлі неухильного росту хворих з порушеннями холестеринового обміну й пов'язаними із цим серйозними захворюваннями, розробка нових продуктів, що сприяють нормалізації кишкової мікрофлори й ліпідного метаболізму, має значний практичний інтерес.

У результаті спеціально проведених досліджень встановлено, що гіпохолестеринемічна здатність лактобацил і біфідобактерій значно підвищується в консорціумі цих мікроорганізмів, а ще більше - у консорціумі з пропіоновокислими й оцтовокислими бактеріями (табл. 3).

Введення до складу бактеріального концентрату штамів лактобацил: *Lactobacillus fermentum* IMB-7146 і *L. plantarum* IMB-7116, а також штаму біфідобактерій *B. adolescentis* IMB B-7148 дозволяє підвищити резистентність мікробної флори продукту до шлункового соку, антагоністичну активність щодо патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, здатність знижувати вміст холестерину й за рахунок цього підвищити пробіотичну ефективність продукту. Використання високоактивних культур біфідобактерій і лактобацил дозволяє зменшити число штамів, які використовуються у складі пробіотика з 24 (за прототипом) до 11 і за рахунок цього підвищити стабільність технологічного процесу ферментації молока і якості кисломолочного продукту.

Відповідно до запропонованого способу бактеріальний концентрат складається із двох компонентів, перший з яких включає біфідобактерії, лактобацили, пропіоновокислі й оцтовокислі бактерії, а другий - молочнокислі стрептококи родів *Streptococcus* і *Lactococcus* і оцтовокислі бактерії. Дослідження показали, що використання двокомпонентного бактеріального концентрату дозволяє підвищити стабільність технологічного процесу виробництва кисломолочного продукту, а також підвищити біологічну активність клітин, що містяться в ньому пробіотичних бактерій і концентрацію їхніх фізіологічних метаболітів, зокрема вітамінів, летких жирних кислот (оцтової й пропіонової кислоти) і екзополісахаридів.

При одержанні кисломолочного продукту перший компонент бактеріального концентрату, що складається з біфідобактерій, лактобацил, пропіоновокислих і оцтовокислих бактерій, з'єднують із другим компонентом бактеріального концентрату, який складається з молочнокислих стрептококів і оцтовокислих бактерій, у співвідношенні 2:1. Дане співвідношення є найбільш оптимальним.

При зміні співвідношення у бік збільшення вмісту першого й зменшення другого компоненту бактеріального концентрату спостерігається погіршення консистенції продукту й зниження в ньому концентрації бактеріальних полісахаридів. При зниженні вмісту першого й збільшенні концентрації

другого компоненту бактеріального концентрату спостерігається зниження популяційного рівня клітин біфідобактерій, лактобацил і пропіоновокислих бактерій, зменшення концентрації вітамінів і фізіологічно цінних летких жирних кислот (пропіонової і оцтової кислот).

Спосіб здійснюють таким чином.

Спочатку готують двокомпонентний бактеріальний концентрат. Одержання першого компонента бактеріального концентрату, що складається з біфідобактерій, лактобацил, пропіоновокислих і оцтовокислих бактерій, роблять у такий спосіб. Відібрані за фізіологічними властивостями і біологічній сумісності штами видів *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*, *Propionibacterium acidipropionici* і *Acetobacter aceti* з'єднують у рівних співвідношеннях і пересівають 3-5 разів у стерильне молоко. Отриманий консорціум використовують у якості інокулята, що вносять у кількості 5-8% у стерильне живильне середовище, що містить знежирене молоко, розведене водою до вмісту 4-5% сухих речовин, з додаванням 1-2% лимоннокислого натрію тризаміщеного й 10% молока, гідролізованого панкреатином. Нарощування біомаси клітин проводять протягом 12-16 г при температурі 36-38°C. Одержану біомасу відокремлюють від середовища культивування центрифугуванням і змішують у співвідношенні 1:1 з 5%-м стерильним розчином лимоннокислого натрію тризаміщеного.

Для одержання другого компонента бакконцентрату, що складається з молочнокислих стрептококів родів *Streptococcus* і *Lactococcus* і оцтовокислих бактерій, відібрані за полісахаридсинтезуючою здатністю й біологічною сумісністю молочнокислі стрептококи видів *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* і *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, а також оцтовокислі бактерії виду *Acetobacter aceti* з'єднують у рівних співвідношеннях і пересівають 3-5 разів у стерильне молоко. Отриманий консорціум використовують як інокулят, що вносять у кількості 3-5% у стерильне живильне середовище, що містить знежирене молоко, розведене водою до вмісту 4-5% сухих речовин, з додаванням 1-2% лимоннокислого натрію тризаміщеного. Нарощування біомаси клітин проводять протягом 12-16 г при температурі 32-34°C. Отриману біомасу відокремлюють від середовища культивування центрифугуванням і змішують у співвідношенні 1:1 з 5%-м стерильним розчином лимоннокислого натрію тризаміщеного.

Характеристика компонентів бакконцентрату наведена в таблиці 4.

Для одержання кисломолочного продукту молоко пастеризують при температурі 87-95°C із витримкою 15-30 хвилин, охолоджують до температури 35-37°C, вносять активізований бактеріальний концентрат і витримують при температурі сквашування до утворення згустку кислотністю 70-80°Т. Для активізації бактеріального концентрату в стерильне молоко вносять перший і другий компоненти бакконцентрату у співвідношенні 2:1 і інокульоване молоко витримують про-

тягом 3 г при температурі 37°C. Скважене молоко перемішують при охолодженні й фасують. Характеристика продукту, одержаного запропонованим способом, представлена в таблиці 5.

Винахід пояснюється прикладами.

Приклад 1. Спосіб одержання кисломолочного продукту «Симбівіт преміум» здійснюють таким чином. Для одержання бактеріального концентрату готують два компоненти. Для готування першого компонента на основі біфідобактерій, лактобацил, пропіоновокислих і оцтовокислих бактерій використовують наступні штами:

*Bifidobacterium bifidum* IMB B-7113;  
*Bifidobacterium longum* IMB B-7150;  
*Bifidobacterium adolescentis* IMB B-7148;  
*Lactobacillus fermentum* IMB B-7146;  
*Lactobacillus fermentum* IMB B-7133;  
*Lactobacillus plantarum* IMB B-7116;  
*Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* ВКПМ В-4544;  
*Propionibacterium acidipropionici* ВКПМ В-5800;  
*Acetobacter aceti* ЦМПМ В-3373.

Штами вносять у рівних співвідношеннях у стерильне молоко, витримують при температурі 37°C до утворення згустку. Отриманий консорціум пересівають 5 разів у стерильне молоко. Перевірений на стабільність консорціум використовують як інокулянт, який вносять у кількості 8% у стерильне живильне середовище, що містить знежирене молоко, розведене водою до вмісту сухих речовин 5%, до якого додають 2% лимоннокислого натрію тризаміщеного й 10% знежиреного молока, гідролізованого панкреатином. Нарощування біомаси клітин проводять протягом 12 г при температурі 37°C. Отриману біомасу відокремлюють від середовища культивування центрифугуванням і змішують у співвідношенні 1:1 з 5%-м стерильним розчином лимоннокислого натрію тризаміщеного.

Для приготування другого компоненту бактеріального концентрату використовують полісахаридсинтезуючі штами молочнокислих стрептококів і оцтовокислі бактерії, що стимулюють їх:

*Lactococcus lactis* ВКПМ В-5725;  
*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* ВКПМ В-5388;  
*Acetobacter aceti* ЦМПМ В-3373.

Штами з'єднують у рівних співвідношеннях. Отриманий консорціум пересівають 5 разів у стерильне молоко й використовують як інокулянт, який вносять у кількості 5% у стерильне живильне середовище, що містить знежирене молоко, розведене водою до 5% сухих речовин, з додаванням 2% лимоннокислого натрію тризаміщеного. Нарощування біомаси клітин проводять протягом 12 г при температурі 33°C. Отриману біомасу відокремлюють від середовища культивування центрифугуванням і змішують у співвідношенні 1:1 з 5%-м стерильним розчином лимоннокислого натрію тризаміщеного.

Для одержання кисломолочного продукту молоко нормалізують за вмістом жиру, гомогенізують, пастеризують при температурі 95°C із витримкою 15 хвилин, охолоджують до температури 37°C. До підготовленого молока вносять активізовані компоненти бактеріального концентрату. Для

активізації бактеріального концентрату в 10 л стерилізованого молока вносять 20 см<sup>3</sup> першого компонента бакконцентрату та 10 см<sup>3</sup> другого компонента бакконцентрату. Інокульоване молоко витримують протягом 3 г при температурі 37°C. Активізований бакконцентрат вносять в 1 т молока, приготовленого для сквашування, і витримують при температурі 37°C до утворення згустку кислотністю 70°Т. Скважене молоко перемішують при охолодженні і розливають. Характеристика одержаного продукту представлена в таблиці 5.

Приклад 2. Для одержання бактеріального концентрату готують два компоненти. Для приготування першого компонента на основі біфідобактерій, лактобацил, пропіоновокислих і оцтовокислих бактерій використовують наступні штами:

*Bifidobacterium bifidum* ВКПМ В-5799;  
*Bifidobacterium longum* ВКПМ В-4635;  
*Bifidobacterium adolescentis* IMB B-7148;  
*Lactobacillus fermentum* IMB B-7146;  
*Lactobacillus fermentum* IMB B-7133;  
*Lactobacillus plantarum* IMB B-7116;  
*Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* ВКПМ В-4545;  
*Propionibacterium acidipropionici* ВКПМ В-5723;  
*Acetobacter aceti* ЦМПМ В-2021.

Штами з'єднують у рівних співвідношеннях у стерильному молоці. Інокульоване молоко витримують при температурі 36°C до утворення згустку. Отриманий консорціум пересівають 3 рази в стерильне молоко й використовують як інокулянт, що вносять у кількості 5% у стерильне живильне середовище, що містить знежирене молоко, розведене до вмісту 4% сухих речовин, до якого додають 1% лимоннокислого натрію тризаміщеного й 10% знежиреного молока, гідролізованого панкреатином. Нарощування біомаси клітин проводять протягом 16 г при температурі 36°C. Одержану біомасу відокремлюють від середовища культивування центрифугуванням і змішують у співвідношенні 1:1 з 5%-м стерильним розчином лимоннокислого натрію тризаміщеного.

Для приготування другого компонента бактеріального концентрату використовують полісахаридсинтезуючі штами молочнокислих стрептококів і оцтовокислі бактерії, що стимулюють їх:

*Lactococcus lactis* ВКПМ В-5387;  
*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* ВКПМ В-4741;  
*Acetobacter aceti* ЦМПМ В-2021.

Штами з'єднують у рівних співвідношеннях і пересівають 3 рази в стерильне молоко з наступним культивуванням при температурі 32°C до утворення згустку. Отриманий консорціум використовують як інокулянт, що вносять у кількості 3% у стерильне живильне середовище, що містить знежирене молоко, розведене водою до вмісту 4% сухих речовин, у яке додають 2% лимоннокислого натрію тризаміщеного. Нарощування біомаси клітин проводять протягом 16 г при температурі 32°C. Одержану біомасу відокремлюють від середовища культивування центрифугуванням і змішують у співвідношенні 1:1 з 5%-м стерильним розчином лимоннокислого натрію тризаміщеного.

Для одержання кисломолочного продукту молоко нормалізують за вмістом жиру, гомогенізують, пастеризують при температурі 90°C із витримкою 25 хвилин, охолоджують до температури 36°C. У підготовлене молоко вносять активізовані компоненти бактеріального концентрату. Для активізації бактеріального концентрату в 10 л стерилізованого молока вносять 10 см<sup>3</sup> першого компонента бакконцентрату й 5 см<sup>3</sup> другого компонента бакконцентрату. Інокульоване молоко витримують протягом 4 г при температурі 37°C. Активізований бакконцентрат вносять в 500 кг молока, приготовленого для заквашування, й витримують при температурі 36°C до утворення згустку кислотністю 75°Т. Сквашене молоко перемішують при охолодженні й подають розлив. Характеристика одержаного продукту представлена в таблиці 5.

Приклад 3. Для одержання бактеріального концентрату готують два компоненти. Для приготування першого компонента на основі біфідобактерій, лактобацил, пропіоновокислих та оцтовокислих бактерій використовують наступні штами:

*Bifidobacterium bifidum* IMB B-7113;  
*Bifidobacterium longum* IMB B-7150;  
*Bifidobacterium adolescentis* IMB B-7148;  
*Lactobacillus fermentum* IMB B-7146;  
*Lactobacillus fermentum* IMB B-7133;  
*Lactobacillus plantarum* IMB B-7116;  
*Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* ВКПМ В-4544;  
*Propionibacterium acidipropionici* ВКПМ В-5800;  
*Acetobacter aceti* ЦМГМ В-2847.

Штами з'єднують у рівних співвідношеннях і пересівають 4 рази в стерильне молоко з культивуванням при температурі 38°C. Отриманий консорціум використовують як інокулят, який вносять у кількості 7% у стерильне живильне середовище, що містить знежирене молоко, розведене водою до вмісту 4,5% сухих речовин, до якого додають 1,5% лимоннокислого натрію тризаміщеного й 10% знежиреного молока, гідролізованого панкреатином. Нарощування біомаси клітин проводять протягом 14 г при температурі 38°C. Отриману біомасу відокремлюють від середовища культивування центрифугуванням і змішують у співвідношенні 1:1 з 5%-м стерильним розчином лимоннокислого натрію тризаміщеного.

Для приготування другого компонента бактеріального концентрату використовують полісахаридсинтезуючі штами молочнокислих стрептококів і оцтовокислі бактерії, що стимулюють їх:

*Lactococcus lactis* ВКПМ В-4543;  
*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* ВКПМ В-5388;  
*Acetobacter aceti* ЦМГМ В-2847.

Штами з'єднують у рівних співвідношеннях і пересівають 4 рази в стерильне молоко при температурі 34°C. Отриманий консорціум використовують як інокулят, що вносять у кількості 4% у стерильне живильне середовище, що містить знежирене молоко, відновлене водою до 4,5% сухих речовин, у яке додають 1,5% лимоннокислого натрію тризаміщеного. Нарощування біомаси

клітин проводять протягом 14 г при температурі 34°C. Отриману біомасу відокремлюють від середовища культивування центрифугуванням і змішують у співвідношенні 1:1 з 5%-м стерильним розчином лимоннокислого натрію тризаміщеного.

Для одержання кисломолочного продукту молоко нормалізують за вмістом жиру, гомогенізують, пастеризують при температурі 87°C із витримкою 30 хвилин, охолоджують до температури 35°C. У підготовлене молоко вносять активізовані компоненти бактеріального концентрату. Для активізації бактеріального концентрату в 10 л стерилізованого молока вносять 30 см<sup>3</sup> першого компонента бакконцентрату й 15 см<sup>3</sup> другого компонента бакконцентрату. Інокульоване молоко витримують протягом 3,5 г при температурі 35°C. Активізований бакконцентрат вносять в 1,5 т молока, приготовленого для заквашування й витримують до утворення згустку кислотністю 75°Т. Сквашене молоко перемішують при охолодженні й фасують. Характеристика одержаного продукту представлена в таблиці 5.

У таблиці 4 наведена порівняльна характеристика бактеріальних концентратів для виробництва кисломолочних продуктів, що одержані відомим і пропонованим способом. За даними таблиці, пропонований спосіб, у порівнянні з відомим, дозволяє поліпшити біологічні властивості бактеріального концентрату за рахунок підвищення стійкості пробіотичної мікрофлори до шлункового соку, гіпохолестеринемічної, полісахаридсинтезуючої, лізоцимсинтезуючої і вітаміносинтезуючої здатності, збільшення синтезу фізіологічно цінних оцтової й пропіонової кислот. При цьому в концентраті, одержаному пропонованим способом, міститься менша концентрація клітин бактерій, але підвищується їх пробіотична й біотехнологічна активність. Це дозволяє одержувати кисломолочні продукти з високою пробіотичною ефективністю й стабільною якістю.

У таблиці 5 наведена порівняльна характеристика кисломолочних продуктів, що одержують пропонованим і відомим способами. Кисломолочний продукт, який одержують за пропонованим способом, відрізняється від прототипу більш низькою концентрацією бактеріальних клітин, що попереджає зайве антигенне перевантаження імунної системи у осіб з імунodefіцитами. Поряд із цим, за рахунок підвищення біологічної активності мікрофлори, яка використовується в продукті, значно збільшується концентрація метаболітів, що сприяють збільшенню пробіотичного ефекту продукту (коротколанцюгові жирні кислоти, вітаміни, лізоцим, екзополісахариди). Крім того, продукт відрізняється низькою концентрацією холестерину й високою концентрацією пробіотичних бактерій з гіпохолестеринемічною активністю, що дозволяє його використовувати в лікувально-дієтичному харчуванні хворих з порушеннями ліпідного обміну й серцево-судинних захворювань.

Таким чином, запропонований спосіб дозволяє одержувати кисломолочні продукти із широким спектром пробіотичних властивостей.

Таблица 1

Лізоцимсинтезуюча здатність і резистентність до шлункового соку нових штамів лактобацил і біфідобактерій, що використовуються у складі бакконцентрату для кисломолочного продукту, та їхнього консорціуму

Показники	<i>L. fermentum</i> IMB B- 7146	<i>L. fermentum</i> IMB B- 7133	<i>L. plantarum</i> IMB B- 7116	<i>B. adoles</i> <i>centis</i> IMB B- 7148	Консорціум <i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i> і <i>B.</i> <i>adolescentis</i>
Лізоцимсинтезуюча здатність (зона лізису клітин тест- культури <i>Micrococcus luteus</i> ), мм	10,7±1,5	15,4±0,98	3,3±0,28	2,9±0,17	18,8±1,33
Збереження життєздатності в середовищі, що містить 30 % шлункового соку, % клітин, які вижили, після 2-годинної витримки	85,4±7,02	83,8±10,50	90,4±4,96	91,0±8,20	96,7±6,33
Збереження життєздатності в середовищі, що містить 40 % шлункового соку, % клітин, які вижили, після 2-годинної витримки	80,9±9,08	87,1±5,79	88,9±7,06	83,7±7,11	91,5±8,45
Збереження життєздатності в середовищі, що містить 50 % шлункового соку, % клітин, що вижили, після 2-годинної витримки	73,1±5,45	80,6±8,03	76,9±8,03	69,4±4,99	82,8±6,49
Збереження життєздатності в середовищі, що містить 60 % шлункового соку, % клітин, що вижили, після 2-годинної витримки	68,9±4,60	75,2±6,19	59,1±5,04	60,6±5,13	78,0±6,25

Таблица 2

Антагоністична активність окремих штамів і консорціумів, що використовуються у складі бакконцентрату для кисломолочного продукту (зона затримки росту патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, мм)

Тест- культура	<i>L. fermentum</i> IMB B-7146	<i>L. fermentum</i> IMBB-7133	<i>L. plantarum</i> IMB B-7116	<i>B. adoles</i> <i>centis</i> IMB B-7148	Консорціум <i>L.</i> <i>fermentum</i> , <i>L.</i> <i>plantarum</i> і <i>B.</i> <i>adolescentis</i>	Консорціум лактобацил і бі- фідобактерій із пропіоново- кислими й оцто- вокислими бак- теріями
<i>E. coli</i> 055	19	20	16	10	22	23
<i>E. coli</i> 0111	17	16	16	13	21	22
<i>S. aureus</i> 209	16	14	14	12	22	25
<i>S. epidermidis</i> 37	16	20	18	10	20	20
<i>P. mirabilis</i> 403	19	23	18	10	23	25
<i>P. vulgaris</i> 52	16	17	16	9	20	24
<i>K.pneumoniae</i> 5055	10	14	12	8	17	18
<i>C.albicans</i> 1b	10	12	8	12	14	17
<i>S. sonnei</i> 115	16	15	8	-	16	18
<i>H. pylori</i>	10	14	11	10	15	17
<i>P. aeruginosa</i> 9027	18	21	18	10	24	25
<i>E. cloaceae</i> 16	16	19	17	13	19	22
<i>C. freundii</i> 39	18	17	14	10	20	20
<i>S. typhimurium</i> 156	13	16	18	6	21	23
<i>Y. enterocolitica</i> 15	10	17	6	7	14	19
<i>M. morganii</i> 76	16	13	17	6	14	18

Продовження таблиці 2

Тест- культура	L. fermentum IMB B-7146	L. fermentum IMBB-7133	L. plantarum IMB B-7116	B. adoles- centis IMB B-7148	Консорціум L. fermentum, L. plantarum і B. adolescentis	Консорціум лактобацил і бі- фідобактерій із пропіоново- кислими й оцто- вокислими бак- теріями
E. aerogenes 312	17	19	20	9	21	22
E. faecalis 15	10	18	19	10	19	21

Таблиця 3

Гіпохолестеринемічна здатність штамів лактобацил, біфідобактерій і їхніх консорціумів, що використовуються у складі бакконцентрата для кисломолочного продукту

Штам	Зниження концентрації холестерину в середовищі культивування, %
Lactobacillus fermentum IMB B-7146	44,5±6,50
Lactobacillus fermentum IMB B-7133	48,2±4,94
Lactobacillus plantarum IMB B-7116	40,1±5,83
Bifidobacterium adolescentis IMB B-7148	50,7±5,22
Консорціум L. fermentum, L. plantarum і B. adolescentis	58,9±3,88
Консорціум біфідобактерій, лактобацил, пропіоновоки- слих і оцтовокислих бактерій	67,1±7,06

Таблиця 4

Характеристика бактеріального концентрату для виробництва кисломолочного продукту «Симбівіт преміум» і бактеріального концентрату за прототипом

Показники	Характеристика бакконцентрата			
	Компонент 1	Компонент 2	Компонент 1 + Компонент 2 (2:1)	Прототип
Концентрація бактеріальних клі- тин в 1 см <sup>3</sup> :				
біфідобактерії	$(2,2-5,5) \times 10^{11}$	-	$(4,8-7,5) \times 10^{11}$	$(1,0-1,1) \times 10^{12}$
лактобацили	$(1,4-2,6) \times 10^{10}$	-	$(3,1-4,7) \times 10^{10}$	$(4,3-4,9) \times 10^{12}$
пропіоновокислі бактерії	$(4,5-5,8) \times 10^{10}$	-	$(5,6-5,9) \times 10^{10}$	$(5,0-6,2) \times 10^{11}$
молочнокислі стрептококи	-	$(2,2-4,9) \times 10^{11}$	$(2,8-5,5) \times 10^{11}$	$(2,6-3,1) \times 10^{11}$
оцтовокислі бактерії	$(3,0-4,5) \times 10^8$	$(3,6-5,7) \times 10^8$	$(4,1-5,9) \times 10^8$	$(3,7-5,9) \times 10^8$
Синтез полісахаридів, %	0,8-1,0	2,5-2,6	2,8-2,9	2,0-2,2
Синтез коротколанцюгових жир- них кислот, %:				
молочна кислота	0,75±0,09	0,97±0,11	0,92±0,12	0,98±0,13
оцтова кислота	0,88±0,06	-	0,95±0,14	0,27±0,06
пропіонова кислота	0,60±0,05	-	0,68±0,07	0,15±0,04
Синтез вітамінів (приріст у фер- ментованому молоці):				
B <sub>1</sub> мг %	0,28±0,04	0,15±0,02	0,31±0,06	0,10±0,010
B <sub>2</sub> , мг %	0,51±0,06	0,29±0,07	0,55±0,11	0,21±0,007
B <sub>12</sub> , мкг %	0,39±0,03	0,18±0,01	0,48±0,09	0,13±0,002
Лізоцимсинтезуюча здатність (зона лізису клітин тест-культури Micrococcus luteus), мм	19,6±1,41	1,0±0,12	23,5±1,62	2,7±0,84
Активність згортання молока, г	10±2		10±2	12±2
Зниження вмісту холестерину у ферментованому молоці, %	66,4±4,32	14,1±1,26	14,1±1,26	14,1±1,26
Антагоністична активність (зона затримки росту тест-культур), мм				
E. coli 055	23	2	25	16

Продовження таблиці 4

Показники	Характеристика бакконцентрата			
	Компонент 1	Компонент 2	Компонент 1 + Компонент 2 (2:1)	Прототип
E.coli 0111	22	3	23	15
S. aureus 209	25	1	26	10
S. epidermidis 37	20	0	20	12
P. mirabilis 403	25	0	27	10
P. vulgaris 52	24	2	24	17
K. pneumoniae 5055	18	0	18	16
C. albicans 1b	17	0	18	14
S. sonnei 115	18	1	19	15
H. pylori	17	3	18	0
P. aeruginosa 9027	25	2	26	15
E. cloacae 16	22	2	22	20
C. freundii 39	20	0	20	18
S. typhimurium 156	23	0	24	17
Y. enterocolitica 15	19	0	19	20
M. morganii 76	18	1	18	15
E. aerogenes 312	22	2	23	18
E. faecalis 15	21	3	24	16

Таблиця 5

Характеристика кисломолочних продуктів, що одержують запропонованим і відомим способами

Показники	Характеристика кисломолочних продуктів			
	за прикладом 1	за прикладом 2	за прикладом 3	за прототипом
Концентрація бактеріальних клітин в 1 см <sup>3</sup> :				
біфідобактерії	2,1×10 <sup>8</sup>	2,7×10 <sup>8</sup>	2,5×10 <sup>8</sup>	(7,0-40) ×10 <sup>8</sup>
лактобацили	1,3×10 <sup>8</sup>	1,5×10 <sup>8</sup>	1,8×10 <sup>8</sup>	(6,9-7,5) ×10 <sup>8</sup>
пропіоновікислі бактерії	4,2×10 <sup>7</sup>	3,9×10 <sup>7</sup>	4,3×10 <sup>7</sup>	(1,3-1,6) ×10 <sup>9</sup>
молочнокислі стрептококи	1,9×10 <sup>8</sup>	2,4×10 <sup>8</sup>	2,9×10 <sup>8</sup>	(2,6-3,1) ×10 <sup>8</sup>
оцтовікислі бактерії	6,4×10 <sup>6</sup>	6,8×10 <sup>6</sup>	7,1×10 <sup>6</sup>	(2,5-4,1) ×10 <sup>6</sup>
Вміст полісахаридів, %	2,5	2,6	2,6	2,0-2,2
Вміст коротколанцюгових жирних кислот, %:				
молочна кислота	0,78	0,80	0,82	0,99±0,12
оцтова кислота	0,86	0,88	0,90	0,23±0,04
пропіонова кислота	0,58	0,62	0,65	0,17±0,02
Вміст вітамінів:				
B <sub>1</sub> мг %	0,23	0,25	0,24	0,15
B <sub>2</sub> , мг %	0,44	0,47	0,46	0,32
B <sub>12</sub> , мкг %	0,31	0,33	0,34	0,27
Вміст холестерину, % від вихідного	66,6±4,18	66,5±3,95	66,8±5,42	14,4±2,07
Вміст лізоциму (зона лізису клітин тест-культури Micrococcus luteus), мм	18,5±0,98	1,0±0,05	23,3±2,07	2,1±0,65