



Государственный комитет
СССР
по делам изобретений
и открытий

О П И С А Н И Е ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(61) Дополнительное к авт. свид-ву —

(22) Заявлено 03.10.77 (21) 2526902/28-13

(23) Приоритет — (32) 19.10.76

(31) P-193146 (33) ПНР

Опубликовано 15.01.82, Бюллетень № 2

Дата опубликования описания 15.01.82

(11) 897201

(51) М. Кл.³

A 23 C 19/032

(53) УДК 637.33
(088.8)

(72) Авторы
изобретения

Иностранцы

Леонард Калиновски, Эльжбета Фронцкевич,
Леонарда Янишевска, Анна Павлык, Данута
Ежи Писарек, Маря Шадковска и Ядвига Сьвитац-Томашевска
(ПНР)

(71) Заявитель

Иностранное предприятие

"Институт Пшемислу Млэчарского"
(ПНР)

ВСЕСОЮЗНАЯ

ПАТЕНТНО-
ИЗЫСКАТЕЛЬСКАЯ
БИБЛИОТЕКА

(54) ФЕРМЕНТНЫЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ СОЗРЕВАНИЯ СЫРОВ

1

Изобретение относится к микробиологической и сыродельной промышленности и касается ферментного препарата для производства сыров.

Известен гидролизат молочнокислых бактерий для ускорения созревания сыра и регулирования процесса созревания эстонского сыра, который получают из смеси нескольких видов молочнокислых бактерий, которые гидролизуют воздействием пепсина и карбоната натрия в молоке. В результате чего часть клеточных ферментов подвергается частичной инаktivации [1].

Наиболее близким по технической сущности и достигаемому положительному эффекту к предлагаемому является ферментный препарат для созревания сыров и ускорения образования вкуса, включающий наряду с пищевыми липазами или пептидазами и поваренной соли сухие внутриклеточные протеазы плесени *Penicillium roqueforti* [2].

Однако этот препарат дорогостоящий, так как содержит липазу животного происхождения.

Цель изобретения — удешевление целевого продукта.

2

Поставленная цель достигается тем, что ферментный препарат, включающий сухие внутриклеточные протеазы плесени *Penicillium*, дополнительно содержит ферментный препарат штамма молочнокислого стрептококка *Streptococcus lactis* T-54 или *Streptococcus lactis* 147 с протеолитической активностью 70 ед/г или ферментный экстракт штамма молочнокислой палочки *Lactobacillus casei* X-10 с протеолитической активностью 140 ед/г, а из внутриклеточных протеаз плесени *Penicillium* используют штамм плесени *Penicillium candidum* X-10 с активностью 5000 ед/г, при этом соотношение внутриклеточных протеаз плесени и ферментного экстракта молочнокислых бактерий устанавливают в пределах (1-2,5)-(1-3).

Сущность изобретения состоит в том, что для приготовления ферментного препарата готовят сухой экстракт внутриклеточной протеазы плесени *Penicillium candidum* X-10. Мицелий плесени культивируют в сывороочной питательной среде поверхностным или глубинным методом, отделяют от питательной среды, промывают

30

мицелий и гомогенизируют. Из полученной суспензии протеазу экстрагируют перемешиванием при pH 5,6-6,0 и 6-10°C 18-24 ч. Экстракт отделяют из суспензии центрифугированием при 4.000-6000 g выделенный экстракт очищают осаждением этиловым спиртом при конечной концентрации 70% или высаливанием сульфатом аммония до 75% по весу. Осажденный фермент отделяют центрифугированием и высушивают методом сублимации.

Второй компонент препарата - ферментные экстракты бактерий молочнокислого брожения получают из выбранных штаммов *Streptococcus lactis* T-54 или 147, или *Lactobacillus casei* X-10. Эти штаммы культивируют в сыровоточной среде, обогащенной пептоном и дрожжевым экстрактом или пептонами, полученными непосредственным протеолизом сыровоточных белков ферментом папаином. Полученную биомассу отделяют центрифугированием, подвергают автолизу и экстракции в водной суспензии 72 ч при 4-8°C или разрушению клеток ультразвуком, после чего автолизат сушат методом сублимации. Полученные сухие экстракты смешивают в соотношении (1-2,5)-(1-3). Препарат ускоряет созревание сыров, не вызывает при этом появления горького привкуса.

Используемые для получения ферментного препарата штаммы микроорганизмов имеют следующие характеристики.

Плесень *Penicillium candidum*, вид *Penicillium*, семейство *Mucedinaceae*, ряд *Hyphomycetales*, порядок *Fungi imperfecti*. Отличается характерными для этого рода конидиофорами длиной 260-600 x 2,5-3,5 мкм, Метули 2-3 в группе длиной 9-14 x 2,2-3,2 мкм, стеригния 2-5 в группе, конидия в виде эллипса 3,5-5 x 3-4,5 мкм.

Через 10 дней роста на питательной среде Чапека с агаром образует колонии диаметром 2-3 см. На сусле через 7 дней достигают они таких же размеров. Образуют споры через примерно 3 недели.

Штамм *Penicillium candidum* X-10 накапливает специфические протеолитические ферменты в количестве до 3000 единиц на 1 г сухой массы мицелия. Этот фермент гидролизует белки молока главным образом до полипептидов и частично до аминокислот. При недостатке азотистых веществ образует небольшие количества жира.

Бактерии *Streptococcus lactis* относятся к семейству *Lactobacteriaceae* являются стрептококками, состоящими из круглых или легко продолговатых клеток диаметром 0,5-1,0 мкм. Чаще всего они появляются в диплококках или кратких цепочках. Грамположительные. На питательной среде с

агаром они растут в виде небольших круглых или овальных сероватых колоний. Они характеризуются способностью образовывать лактозу до молочной кислоты. Оптимальная температура роста 30°C, максимальная 50°C. Концентрация хлористого натрия, тормозящая рост, 6%, предельное pH роста 9,4. Принадлежат к серологической группе H, относительные анаэробы. Штамм *Str. lactis* 177 накапливает до 100 единиц протеаз на 1 г сухой бактериальной массы, штамм *Str. lactis* T-54 до 140 единиц протеолитической активности на 1 г сухой бактериальной массы.

Lactobacillus casei принадлежит к семейству *Lactobacteriaceae*. Клетки в виде палочек, толщиной 0,7-1,0 мкм и длиной 3,0-8,0 мкм. Появляются как отдельные клетки или в коротких цепочках. Мало подвижные. Грамположительные. Не растворяют желатин. С лактозы продуцируют рацемическую молочную кислоту с небольшим количеством уксусной кислоты с CO₂. Переносит NaCl до 5. Оптимальная температура роста 37°C, максимальная 45°C, минимальная 10°C. Микроаэрофил.

Штамм *Lactobacillus casei* X-10 накапливает протеолитические ферменты в количестве до 190 единиц протеолитической активности на 1 г сухой бактериальной массы.

Пример 1. Исходный штамм плесени *Penicillium candidum* X-10 культивируют в стерильных закрываемых сосудах на твердом агаровом субстрате с суслом в 3 недель при 22°C. Споры вымывают раствором физиологической соли и суспензию используют в качестве инокулюма для засева стерильной сыровотки при pH 4,5, разливают тонким слоем - 3 мм в стерильных кюветах и культивируют 8 дней при 22°C и относительной влажности 98%. Пленку грибки снимают, прополаскивают пастеризованной водой, разрывают на мелкие куски, добавляют стерильную дистиллированную воду в количестве 1 л на 1 кг мицелия, четырехкратно гомогенизируют в шелевом гомогенизаторе под давлением 10 МПа. Разбитую суспензию мицелия доводят до pH 5,6, выдерживают при 6°C в 18 ч, остатки мицелия отделяют центрифугированием, а полученный раствор охлаждают до 2°C, медленно добавляют этиловый спирт с температурой 20°C до получения конечной концентрации 70%. Смесь выдерживают в холодильнике при 4°C до выпадения хлопьев белка, после чего белый осадок протеазы отделяют центрифугированием. Остатки спирта отгоняют, а осадок сушат методом сублимации. Получают фермент с протеолитической активностью 5000 ед/г.

Культуру штамма *Streptococcus lactis* T-54 или *Streptococcus lactis* 177 приливают на стерильную сыворо- точную питательную среду, обогащенную добавкой 0,25% дрожжевого экстракта и 0,25% пептона и инкубируют при 30°C 24 ч. Полученную первичную закваску добавляют в количестве 2% к обога- щенной сывороточной питательной сре- де, находящейся в заквасочнике. Пос- ле 12-часовой инкубации этой зак- васки инокулируют сывороточную пи- тательную среду в ферментере. Доба- вка закваски составляет 5%. Культиви- рование проводят 24 ч при посто- янном перемешивании и нейтрализации 10-процентным стерильным раствором натриевого основания до pH 6,0. Био- массу бактериальных клеток отделяют от питательной среды центрифугирова- нием, а осадок промывают стерильным раствором фосфатного буфера M/15 с pH 6,8 и снова центрифугируют.

Бактериальные клетки в количестве 15% взвешивают в дистиллированной воде и проводят процесс автолиза и экстракции при перемешивании раство- ра с температурой 4°C 24 ч. Автоли- зат подвергают сублимационной сушке. Высушенный препарат измельчают в по- рошок. Получают препарат с активнос- тью 70 ед/г. Полученные сухие фер- ментные экстракты смешивают в соот- ношении 1:3.

Пример 2. Применения препара- та для ускорения созревания сыра гол- ландского типа. К 5000 л молока для сыроделия температурой 30°C, пасте- ризованного при 75°C в течение нес- кольких секунд, прибавляют 1 кг фер- ментного препарата, в состав которо- го входят протеазы. *P. candidum* X-10 с активностью 5000 ед/г и ферментный экстракт из биомассы *Streptococcus lactis* T-54 с активностью 70 ед/г, растворенного в соотношении 1:2,5 в 5 л дистиллированной воды. Все тща- тельно перемешивают и выдерживают полчаса. Затем ведут выработку сыра голландского типа в соответствии с известным и применяемым обычно про- цессом. Готовые посоленные сыры под- вергают созреванию при 14°C и отно- сительной влажности воздуха 85%. Сыры достигают полной зрелости че- рез 5 недель. Этот период наполови-

ну короче продолжительности созрева- ния этого типа сыра без добавки комплексного ферментного препарата. Сыры, полученные с применением фер- ментного препарата, отличаются пра- вильной консистенцией и вкусом и аро- матом, свойственным для этого типа сыра.

Протеолитическую активность пре- парата определяют по методу Ансона в модификации, принятой Координа- онным Центром СЭВ, для проблемы "Улучшение питательной ценности су- ществующих и разработке новых видов высококачественных пищевых продуктов".

Таким образом, применение комплек- сного ферментного препарата с разным составом позволяет получать сыры хо- рошего качества при ускорении процес- са их созревания.

Формула изобретения

1. Ферментный препарат для созрева- ния сыров, включающий сухие внутри- клеточные протеазы плесени *Penicilli- um*, отличающийся тем, что, с целью удешевления целевого продук- та, он дополнительно содержит фер- ментный экстракт штамма молочнокис- лого стрептококка *Streptococcus lac- tis* T-54 или *Streptococcus lactis* 147 с протеолитической активностью 70 ед/г или ферментный экстракт штамма молочнокислой палочки *Lacto- bacillus casei* X-10 с протеолитичес- кой активностью 140 ед/г, а из внут- риклеточных протеаз плесени *Penicil- lium* используют штамм плесени *Peni- cillium candidum* X-10 активностью 5000 ед/г.

2. Препарат по п. 1, отлича- ющийся тем, что соотношение внутриклеточных протеаз плесени и ферментного экстракта молочнокислых бактерий устанавливают в пределах (1-2,5)-(1-3).

Источники информации, принятые во внимание при экспертизе

1. Сборник технологических инст- рукций по производству твердых сы- чужных сыров. М., ЦНИИЭИ, 1974, с. 68, 134-136.

2. Патент США № 3975534, кл. 426- 35, опублик. 17.08.76.

Редактор М. Недолуженко Составитель И. Привалова
Техред Л. Пекарь Корректор В. Синицкая

Заказ 11771/4

Тираж 569

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР
по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Филиал ППП "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4