



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 100 936** ⁽¹³⁾ **C1**

(51) МПК⁶ **A 23 C 9/127**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 96103941/13, 28.02.1996

(46) Дата публикации: 10.01.1998

(56) Ссылки: SU, авторское свидетельство, 1697684, кл. А 23 С 9/12, 1988. RU, патент, 2023396, кл. А 23 С 9/12, 1993.

(71) Заявитель:

Бевз Нина Ивановна,
Лизько Надежда Николаевна,
Пархимович Георгий Адамович,
Дридж Ирина Викторовна

(72) Изобретатель: Бевз Нина Ивановна,
Лизько Надежда Николаевна, Пархимович
Георгий Адамович, Дридж Ирина Викторовна

(73) Патентообладатель:

Бевз Нина Ивановна,
Лизько Надежда Николаевна,
Пархимович Георгий Адамович,
Дридж Ирина Викторовна

(54) СПОСОБ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЗАКВАСКИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО КИСЛОМОЛОЧНОГО ПРОДУКТА "НОРМОФЛОР" И СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ

(57) Реферат:

Использование: биотехнология и молочная промышленность. Сущность изобретения: готовят закваску, содержащую Bifidobacterium longum В-379 М и Bifidobacterium bifidum ЛВА-3 или Bifidobacterium longum В 379 М и Bifidobacterium bifidum 791 и кефирные грибки в соотношении Bifidobacterium longum В-379М, Bifidobacterium bifidum ЛВА-3 или

Bifidobacterium bifidum 791 и кефирных грибков 1:1:0,5 соответственно. Данную закваску используют для приготовления лечебно-профилактического кисломолочного продукта, при этом сквашивание ведут в два этапа: сначала с выдержкой в течение 4-6 ч до рН 5,1-5,5, а затем после расфасовки при 18-22°C до образования сгустка. 2 с.п. ф-лы, 1 табл.

RU 2 1 0 0 9 3 6 C 1

RU 2 1 0 0 9 3 6 C 1



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 100 936** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) Int. Cl.⁶ **A 23 C 9/127**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 96103941/13, 28.02.1996

(46) Date of publication: 10.01.1998

(71) Applicant:

Bevz Nina Ivanovna,
Liz'ko Nadezhda Nikolaevna,
Parkhimovich Georgij Adamovich,
Dridzh Irina Viktorovna

(72) Inventor: Bevz Nina Ivanovna,
Liz'ko Nadezhda Nikolaevna, Parkhimovich
Georgij Adamovich, Dridzh Irina Viktorovna

(73) Proprietor:

Bevz Nina Ivanovna,
Liz'ko Nadezhda Nikolaevna,
Parkhimovich Georgij Adamovich,
Dridzh Irina Viktorovna

(54) **METHOD OF PREPARING THE FERMENT FOR MAKING THE CURATIVE-PROPHYLACTIC LACTIC ACID PRODUCT AND A METHOD OF ITS MAKING**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology, dairy industry.
SUBSTANCE: method involves preparing the ferment containing Bifidobacterium longum B-379M and Bifidobacterium bifidum LVA-3 or Bifidobacterium longum B-379M and Bifidobacterium bifidum 791 and kefir fungi at ratio Bifidobacterium longum B-379M, Bifidobacterium bifidum LVA-3 or

Bifidobacterium bifidum 791 and kefir fungi = 1:1: 0.5, respectively. This ferment is used for preparing the curative-prophylactic lactic acid product. Fermentation is carried out for two stages: firstly - exposition for 4-6 h to pH = 5.1-5.5 and then after package at 18-22 C up to clot formation. EFFECT: improved method of preparing. 2 cl, 1 tbl

RU 2 1 0 0 9 3 6 C 1

RU 2 1 0 0 9 3 6 C 1

Изобретение относится к биотехнологии и молочной промышленности и может быть использовано для непосредственного употребления для нормализации микрофлоры кишечника, профилактики и лечения острых и хронических желудочно-кишечных заболеваний, пищевых аллергий, для повышения иммунитета организма, выведения из него вредных веществ.

Известен способ приготовления закваски для получения кисломолочного продукта, включающий культивирование бифидобактерий *Bifidobacterium longum* B-379 M и кефирных грибов на питательной среде при 25-27°C в течение 8-10 ч [1]

Недостатком известного способа приготовления закваски является то, что бифидобактерии при 25-27°C в течение 8-10 ч не могут накопить количество жизнеспособных клеток $6 \cdot 10^9$, поскольку оптимальная температура культивирования бифидобактерий 37,5-38°C, а скорость роста данного штамма 16-18 ч.

Известен также способ получения лечебно-профилактического кисломолочного продукта, включающий нормализацию, гомогенизацию, термическую обработку исходного молочного сырья, охлаждение до температуры заквашивания, деоксигенацию, внесение закваски, содержащей бифидобактерий, сквашивание, охлаждение, расфасовку [2]

Недостатком известного способа получения продукта является то, что полученный продукт можно рекомендовать только детям старшего возраста и взрослым.

Техническим результатом изобретения является удлинение срока его хранения, повышение биологической активности конечного продукта и выхода жизнеспособных бифидобактерий двух видов *B. bifidum* и *B. longum*.

Сущность изобретения заключается в подборе штаммов бифидобактерий, их соотношение с кефирными грибами, а также раздельное культивирование бифидобактерий и кефирных грибов с последующим смешиванием культур и питательной среды, используемой для накопления биомассы бифидобактерий.

Используемая основа ферментативный гидролизат строжки шкур крупного рогатого скота содержит 18 свободных аминокислот, в том числе и 9 незаменимых, которые должны обязательно входить в состав нашей пищи, а также биологически активные полипептиды.

Среда состоит из следующих компонентов, г/л:

Ферментативный гидролизат строжки шкур крупного рогатого скота 25-30

Лактоза 1-водная 9-11

Натрий хлористый 4,5-6,0

Агар-агар 0,7-1,2

Дистиллированная вода До 1 л

Приготовление посевного материала бифидобактерий производят на специальной среде "Эпидермат-0" /ТУ 9388-001-18045931-93, разрешено приказом МЗ РФ N 90 от 16.05.94 г./, основой которой служит ферментативный гидролизат строжки шкур крупного рогатого скота. Для приготовления посевного материала ампулу бифидобактерий вскрывают со строгим соблюдением правил асептики. Содержимое ампулы растворяют в 1,5-2,0 мл стерильного

физиологического раствора или среды культивирования и переносят в пробирку со средой выравнивания. Смесь размешивают и получают исходное разведение культуры, далее раститровывают культуру до 10^{-8} разведения путем переноса 1 мл культуры в последующую пробирку 9 мл среды. Выращивают в течение 48 ч при +37,5°C. Полученную таким образом культуру пассируют еще раз на питательной среде и получают II пассаж культуры, который идет на приготовление производственной закваски.

Приготовление производственной закваски производят в культиваторах КС-6 или КС-40, предварительно простерилизованных проточным паром. Культиваторы заполняют газообразным азотом с соблюдением правил асептики, после чего на 4/5 объема заполняют стерильной средой. Среду подают из сифонов путем создания в них избыточного давления азотом.

Среду барботируют азотом в течение 3-5 мин. Затем через сифон подают 3-5% от объема культуры среды, культуру II пассажа. Все операции заполнения культиватора проводят при постоянном перемешивании. Процесс культивирования бифидобактерий производят при 37,5-38°C в течение 16-18 ч, при этом постоянно контролируют pH, накопление биомассы и кислотность по Тернеру. После завершения культивирования содержание бифидобактерий в 1 мл закваски должно быть не ниже $1 \cdot 10^9$, pH среды 5,1-5,3.

Приготовление производственной закваски кефирных грибов производят на обезжиренном или цельном молоке, используя маточную закваску, приготовленную по требованиям САНПиН.

Культуры бифидобактерий I и II генерации совместно с питательной средой, используемой для накопления биомассы бифидобактерий, объединяют с кефирными грибами и подают в культиватор КС-40 под давлением, стерильно.

Питательная среда для накопления биомассы бифидобактерий содержит компоненты в следующих соотношениях, г/л:

ферментативный гидролизат строжки шкур крупного рогатого скота 25-30

Лактоза I-водная 9-11

Натрий хлористый 4,5-6,0

Агар-агар 0,7-1,2

Дистиллированная вода До 1 л

Кисломолочный продукт "Нормофлор"

готовят в металлических культиваторах КМ-36, КМ-25 или КМ-1000. Для приготовления продукта используют цельное или обезжиренное молоко по ГОСТ 13264-88, 1 сорта, термоустойчивостью по алкогольной пробе не ниже III группы, кислотностью не более 19°Т, плотностью не менее 1,027 г/см². Молоко гомогенизируют, заливают в культиватор, заполненный на 4/5 объема молоком, стерилизуют при постоянном перемешивании и под давлением 0,5 кг/см² в течение 30-40 мин при 95-100°C,

охлаждают до 35-36°C, удаляют кислород барботированием азотом в течение 10-15 мин, доводят pH до $7,0 \pm 0,1$, добавляют через сифон количество объединенной закваски (бифидобактерии+кефирные грибки: соотношение 1:1:0,5) в количестве 3-5% от

объема молока, перемешивают 3-5 мин и оставляют в покое на 4-6 ч, постоянно контролируя pH и кислотность по Тернеру. При достижении pH 5,2-5,4 и кислотности по Тернеру 60° продукт фасуют при 18-22°C и оставляют при этой же температуре на 1-2 ч до образования сгустка кислотностью по Тернеру 75-80°. После этого тут же захлаживают до 8-10°C. Хранят при этой температуре в течение 5-7 дней. Таким образом, приготовление

лечебно-диетического кисломолочного продукта "Нормофлор" в условиях замкнутой системы увеличивает скорость сквашивания продукта до 5-8 ч. Снижается риск контаминации продукта благодаря использованию автоматизированной линии для получения продукта. Обеспечивается приготовление продукта с узкими границами органолептическими и физико-химическими свойствами (вкус, запах, вязкость, кислотность, pH). Использование культур различных видов молочнокислых бактерий повышает биологическую активность продукта и его физиологичность, что позволяет рекомендовать продукт детям с 6-месячного возраста и взрослым.

Пример. Для приготовления 36 л продукта используют молоко коровье натуральное по ГОСТ 13264-88 в количестве 35 л. Стерилизуют в ферментере при давлении 0,5 кг/см² при 90-100° в течение 40 мин до 35-36 °С.

Закваску бифидобактерий готовят в ферментерах емкостью 5 л. Среду заливают в ферментер в количестве 1,2 л, добавляют 0,3 л культуры II генерации штаммов *B. bifidum* ЛВА-3 и *B. longum* В-379 М; выращивают при 37,5-38° в течение 16-18 ч. При достижении pH 5,1 закваску передавливают азотом в ферментер с молоком, подготовленным для сквашивания. Параллельно с помощью сифона добавляют кефирную закваску в количестве 0,3 л. Перемешивают в течение 3-5 мин и оставляют в состоянии покоя на 4-6 ч при достижении pH 5,2 продукт фасуют и оставляют при 18-22 °С. Охлаждают до 8-10 °С.

Число живых клеток бифидобактерий обоих видов составляет *B. bifidum* ЛВА-3 $3,5 \cdot 10^9$ КОЕ/г и *B. longum* В-379М $6 \cdot 10^9$ КОЕ/г. Кислотность по Тернеру

70-75 °. Посторонняя флора не была обнаружена. Лактобациллы и молочнокислый стрептококк составляли 20-25% от всей микрофлоры. Дрожжеподобные грибки 1-2%

По органолептическим,

физико-химическим и микробиологическим свойствам "Нормофлор" соответствует характеристикам, указанным в таблице.

Формула изобретения:

1. Способ приготовления закваски для получения лечебно-профилактического кисло-молочного продукта, включающий культивирование бифидобактерий *Bifidobacterium longum* В-379 М и кефирных грибов на питательной среде, отличающийся тем, что в состав закваски дополнительно вводят штамм *Bifidobacterium bifidum* ЛВА-3 или *Bifidobacterium bifidum* 791 при соотношении *Bifidobacterium longum* В-279 М, *Bifidobacterium bifidum* ЛВА-3 или *Bifidobacterium bifidum* 791 и кефирных грибов 1 1 0,5 соответственно, при этом культивирование бифидобактерий и кефирных грибов осуществляют отдельно, затем соединяют готовые культуры совместно с питательной средой, используемой для накопления биомассы бифидобактерий, причем среда содержит компоненты в следующих соотношениях, г/л:

Ферментативный гидролизат строжки шкур крупного рогатого скота 25 30

Лактоза 1-водная 9 11

Натрий хлористый 4,5 6,0

Агар-агар (микробиологический) 0,7 1,2

Дистиллированная вода До 1 л

2. Способ получения

лечебно-профилактического кисломолочного продукта, включающий нормализацию, гомогенизацию, термическую обработку исходного молочного сырья, охлаждение до температуры заквашивания, деоксигенацию, внесение закваски, содержащей бифидобактерии, сквашивание, охлаждение, расфасовку, отличающийся тем, что в качестве закваски используют смесь из *Bifidobacterium longum* В-379 М и *Bifidobacterium bifidum* ЛВА-3 или *Bifidobacterium longum* В-379 М и *Bifidobacterium bifidum* 791 и кефирных грибов в соотношении 1 1 0,5 соответственно, при этом процесс сквашивания ведут в два этапа: сначала до pH 5,1 5,5, а затем после расфасовки при 18 22°C до образования сгустка.

Характеристика готового продукта

| Наименование показателей | Характеристика |
|-----------------------------|---|
| 1 | 2 |
| Органолептические | |
| Внешний вид и консистенция | Равномерный, нежный сгусток |
| Отделение сыворотки | Не выявлено |
| Вкус, запах | Кислый, специфический для кисломолочного продукта |
| Цвет | Кремовый |
| Физико-химические | |
| Массовая доля жира, % | 1,7 |
| Массовая доля белка, % | 3,1 |
| Массовая доля углеводов, % | 4,3 |
| Кислотность, °Т | 70-80 ⁰ |
| рН продукта | 5,1 |
| Температура при выпуске, °С | 11 |

RU 2100936 C1

RU 2100936 C1

| 1 | 2 |
|--|---|
| Микробиологические | |
| В мазках, окрашенных метиленовым синим | Культура бифидобактерий с раздвоением на концах и изогнутые палочки, молочнокислый стрептококк, лактобациллы, кефирные дрожжи |
| Количество микроорганизмов, КОЕ/см ³ | |
| бифидобактерии <i>B. bifidum</i> ЛВА-3 | 8,1 · 10 ⁹ |
| <i>B. longum</i> В-379 М | 6,9 · 10 ⁹ |
| кефирные грибки: | |
| молочнокислые стрептококки | 10 ⁵ |
| лактобациллы | 10 ⁶ |
| кефирные дрожжи | 10 ² |
| Наличие условнопатогенных и патогенных микроорганизмов | |
| БГКП (в 0,1-10,0мл) | не обнаружено |
| <i>St. aureus</i> (в 10 мл) | не обнаружено |
| Патогенные микроорганизмы | не обнаружены |

RU 2100936 C1

RU 2100936 C1