



Patent dodatkowy

do patentu nr _____

Zgłoszono: 12. 07. 77 (P. 199 583)

Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 29. 01. 79

Opis patentowy opublikowano: 02.01.1983

Int. Cl.² A23C 9/12

CZYTELNIJA

Urząd Patentowy
P. O. 10.000

Twórcy wynalazku: Ewa Lipińska, Maria Kosikowska, Elżbieta Jakubczyk,
Danuta Lipniewska, Barbara Mamczarek

Uprawniony z patentu: Instytut Przemysłu Mleczarskiego, Warszawa
(Polska)

Sposób wytwarzania fermentowanych produktów mlecznych posiadających właściwości terapeutyczne

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania fermentowanych produktów mlecznych, napojów i twarożku posiadających właściwości terapeutyczne, które produkuje się przy udziale kultur bifidobakterii charakteryzujących się specjalnymi cechami fizjologicznymi. Produkty te są ogólnie przydatne w żywieniu dietetycznym a szczególnie dla małych dzieci i chorych leczonych antybiotykami.

Fermentowane produkty zawierające żywe komórki bifidobakterii mają ogólnie znane właściwości terapeutyczne, przeciwdziałają rozmnażaniu się niepożądanego i chorobotwórczej mikroflory przewodu pokarmowego, przez co wpływają korzystnie na stan zdrowia konsumentów.

W dotychczas znanych metodach otrzymywania produktów zawierających żywe komórki bifidobakterii, na przykład przy produkcji twarogu, dodawano do mleka 0,06% mleczanu wapnia, pasteryzowano w 92—95°C, chłodzono do 42—45°C i dodawano 5—10% samej kultury *Lactobacillus bifidus*, lub łącznie z kulturą paciorkowców mlekowych w stosunku 3:1 w ilościach 5%. Skrzep uzyskany z czystą hodowlą bifidobakterii w 37°C, lub z hodowlą mieszaną w 42—45°C, poddano dalszej obróbce sposobem tradycyjnym lub przy użyciu wirówki. Przy produkcji napojów fermentowanych do mleka pasteryzowanego dodano mieszaninę kultury *Lactobacillus bifidus* i bakterii fermentacji mlekowej. Inkubację w temperaturze 42—44°C prowadzono do pH 5,9, gdy napój miał pozostać w stanie płynnym

2

i do pH 4,8, gdy miało nastąpić krzepnięcie mleka (Klupsch H. J.: Sauermilch — Erzeugnisse, Mann — Verlag, Hildesheim, 1968; Schuler R.: RFN Patent 2 007 785, 1971; Kiswa J., Kruk A., Ziajka S., Ozimek L.: PRL patent 88 360, 1976).

W żadnej ze znanych metod otrzymywania produktów spożywczych zawierających żywe komórki bifidobakterii nie dobierano szczepów pod kątem ich odporności na działanie niekorzystnych fizjologicznych czynników takich jak: niskie pH i fizjologiczne stężenie soli żółciowych jakie mogą występować w przewodzie pokarmowym oraz na działanie antybiotyków leczniczych.

Sposób wytwarzania mlecznych produktów fermentowanych o terapeutycznych właściwościach polega na zaszczepieniu wysokopasteryzowanego mleka (o znormalizowanej zawartości tłuszczu i białka) 4—10%, najkorzystniej 6% zakwasu złożonego w 80—90% ze szczepów bifidobakterii i w 10—20% z mezofilnych lub termofilnych bakterii mlekowych. Zaszczepione mleko inkubuje się w temperaturze 41—44°C, najkorzystniej 42°C i dalszą produkcję napojów i twarożku prowadzi się znanymi metodami.

Szczepionka bifidobakterii składa się z 4 szczepów *Lactobacillus bifidus* o symbolach: 62, J, 567, 6459 pochodzących odpowiednio z: Instytutu Żywności i Żywności w Warszawie, Instytutu Immunologii i Wirusologii w Belgradzie i Instytutu Pasteura w Paryżu (2 ostatnie szczepy) łączonych

w proporcjach — 0,52—0,8 : 0,28—0,4 : 1,9—2,1 : 1,9—2,1 : 1,9—2,1 najkorzystniej — 0,63 : 0,33 : 2 : 2. Charakteryzuje się ona normalną zdolnością ukwaszania mleka i terapeutycznymi właściwościami polegającymi na odporności na działanie niekorzystnych czynników fizjologicznych występujących w przewodzie pokarmowym, takich jak:

pH 4,0 przez 15 minut: przeżywalność bifidobakterii wynosi 70% pierwotnej populacji;

pH 2,0 przez 15 minut: przeżywalność bifidobakterii wynosi 15% pierwotnej populacji;

0,5% soli żółciowych: przeżywalność bifidobakterii wynosi 0,01 pierwotnej populacji.

Szczepionka bifidobakterii jest też odporna na działanie niżej podanych antybiotyków leczniczych: 10 j.m. penicyliny, 100 µg streptomycyny, 30 µg neomycyny.

Bliższe dane charakteryzujące szczepy wchodzące w skład szczepionki zestawione są w tabeli.

wagi mikroflory przewodu pokarmowego w czasie leczenia tymi antybiotykami.

Istotę wynalazku ilustrują szerzej następujące przykłady.

- 5 Przykład I. 100 l mleka odtłuszczonego lub z 2% tłuszczu, pasteryzowanego w 95°C przez 30 minut, schłodzonego do 42—45°C zaszczepia się 4—10%, najkorzystniej 6% zakwasu złożonego w 80—90% ze szczepów *Lactobacillus bifidus* o symbolach J, 62, 567, 6459, połączonych w proporcjach 0,52—0,8 : 0,28—0,4 : 1,9—2,1 : 1,9—2,1 najkorzystniej 0,63 : 0,33 : 2 : 2 (które posiadają zdolność przeżycia w pH soku żołądkowego, w niższych stężeniach soli żółciowych i w obecności penicyliny, streptomycyny oraz neomycyny) i w 10—20% z mezofilnych paciorkowców mlekowych. Zaszczepione mleko rozlewa się do opakowań przed inkubacją, względnie po zakończeniu fermentacji i schłodzeniu do temperatury

Tabela

Oznaczenia		Szczepy <i>Lbc. bifidus</i>			
		J	62	567	6459
Morfologia		Gramdodatnie pałeczki prosto i lekko zgięte	Gromdodatnie pałeczki proste i lekko zgięte	Gramdodatnie pałeczki silnie rozgałęzione	Gramdodatnie pałeczki silnie rozgałęzione
Wytwarzanie katalazy		—	—	—	—
Wytwarzanie indolu		—	—	—	—
Upłynnianie żelatyny		—	—	—	—
Redukcja azotanów		—	—	—	—
FERMENTACJA WĘGLOWODANÓW ROZNICUJĄCYCH	Arabinoza	—	—	—	—
	Ksyloza	—	—	—	—
	Mannoza	+	+	+	+
	Mannitol	+	+	+	+
	Sorbitol	+	+	+	+
PRODUKTY FERMENTACJI GLUKOZY	pH	3,4	3,4	3,5	3,5
	Kwas octowy	+	+	+	+
	Kwas propionowy	—	—	—	—
	Kwas masłowy	—	—	—	—
	Kwas mlekowy	+	+	+	+
Grupa Dehnerta		III	III	III	III

Charakterystykę wykonano wg: H. Werner, H.P.R. Seeliger.: Zentralbl. Bakt. Parazitenk. Abt. I. Orig. 188, 345 (1963).

Spożywanie produktów fermentowanych przez szczepy bifidobakterii posiadające cechy według niniejszego wynalazku poza ogólnymi znanymi korzyściami terapeutycznymi, pozwala dzięki zdolności przeżycia części populacji bifidobakterii w pH soku żołądkowego i w niższych fizjologicznych stężeniach soli żółciowych, na zasiedlanie tymi bakteriami przewodu pokarmowego u ponad 50% konsumentów. Inną korzyścią wynikającą z naturalnej oporności zakwasu bifidobakterii na penicylinę i streptomycynę oraz słabej wrażliwości na neomycynę jest przeciwdziałanie zakłóceniom równo-

około 8°C, gdy stosuje się produkcję w zbiornikach. Czas i temperatura inkubacji wynoszą: 3—5 godzin w 40—44°C, najkorzystniej 42°C, aż do osiągnięcia pH 4,9—5,0. Napój można uzupełniać dodatkami smakowymi. Jednostkowe opakowania z fermentowanym mlekiem przetrzymuje się w około 5°C. Trwałość produktu w tej temperaturze wynosi 12 dni. Produkt zawiera w mikroflorze ponad 50% bifidobakterii posiadających zdolność przeżycia w pH soku żołądkowego, w niższych fizjologicznych stężeniach soli żółciowych oraz w obecności penicyliny, streptomycyny i neomycyny.

Przykład II. 100 l mleka zagęszczanego do 12% suchej masy beztłuszczowej, pasteryzowanego w 95°C przez 30 minut, odtłuszczonego lub z 2% tłuszczu, schłodzonego następnie do 42–45°C i zaszczepionego 4–10% najkorzystniej 6% zakwasu złożonego w 80–90% ze szczepów bifidobakterii: *Lactobacillus bifidus* J, 62, 567, 6459, połączonych w proporcjach: 0,52–0,8 : 0,28–0,4 : 1,9–2,1 : 1,9–2,1, najkorzystniej 0,63 : 0,33 : 2 : 2 (które posiadają zdolność przeżycia w pH soku żołądkowego, w niższych fizjologicznych stężeniach soli żółciowych i w obecności penicyliny, streptomycyny oraz neomycyny) i z 10–20% paciorkowców termofilnych i pałeczek mlekowych o wybitnie śluzogennych właściwościach. Zaszczepione mleko rozlewa się do opakowań jednostkowych przed inkubacją, względnie po zakończeniu fermentacji i schłodzeniu do temperatury około 8°C, gdy stosuje się produkcję w zbiornikach. Czas i temperatura inkubacji wynosi 3–5 godzin w 40–44°C, najkorzystniej 42°C aż do osiągnięcia pH 5,2–4,8. Napój można uzupełniać dodatkami smakowymi. Jednostkowe opakowania z fermentowanym mlekiem przetrzymuje się w około 5°C. Trwałość produktu w tej temperaturze wynosi 12 dni. Produkt zawiera w mikroflorze ponad 50% bifidobakterii posiadających zdolność przeżycia w pH soku żołądkowego, w niższych stężeniach fizjologicznych soli żółciowych oraz w obecności penicyliny, streptomycyny i neomycyny.

Przykład III. Do 100 l mleka pasteryzowanego w 80–85°C przez 15 sekund schłodzonego następnie do 42–45°C dodaje się 4–10%, najkorzystniej 6% zakwasu złożonego w 80–90% ze szczepów bifidobakterii: *Lactobacillus bifidus* J, 62, 567, 6459 połączonych w proporcjach 0,52–0,8 : 0,28–0,4 : 1,9–2,1 : 1,9–2,1 najkorzystniej 0,63 : 0,33 : 2 : 2 (które posiadają zdolność przeżycia w pH soku żołądkowego w niższych fizjologicznych stężeniach soli żółciowych i w obecności penicyliny, streptomycyny oraz neomycyny) i z 10–20% mezofilnych paciorkowców mlekowych. Następnie dodaje się do mleka 0,6% roztworu podpuszczki rozcieńczonej wodą

z solą w stosunku 1 : 100. Zaprawione mleko przetrzymuje się w 42°C przez 2–3 godz., aż do osiągnięcia kwasowości 16–18°SH (pH 5,2). Następnie obniża się temperaturę do 20°C i prowadzi proces dojrzewania przez dalsze 2–3 godziny aż do momentu gdy kwasowość wydzielanej serwatki wynosi 18°SH (pH 4,9–4,8). Skrzep poddaje się dalszej obróbce w celu uzyskania twarogu sposobem tradycyjnym lub przy użyciu wirówek. Twaróg można uzupełnić dodatkami smakowymi. Produkt przetrzymuje się w około 5°C. W tych warunkach trwałość produktu wynosi 7 dni. Produkt zawiera w mikroflorze ponad 50% bifidobakterii posiadających zdolność przeżycia w pH soku żołądkowego, w niższych fizjologicznych stężeniach soli żółciowych oraz w obecności penicyliny, streptomycyny i neomycyny.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób wytwarzania fermentowanych produktów mlecznych, posiadających właściwości terapeutyczne, polegający na zaszczepianiu wysoko pasteryzowanego mleka o znormalizowanej zawartości tłuszczu i suchej masy, szczepionką w ilości 4–10%, najkorzystniej 6% złożoną w 80–90% ze szczepów bifidobakterii i w 10–20% z paciorkowców mezofilnych lub termofilnych bakterii mlekowych, a następnie inkubowaniu w temperaturze 41–44°C, najkorzystniej 42°C i prowadzeniu w znany sposób dalszą produkcję napojów lub twarogu, znamieny tym, że stosuje się szczepionkę kultur bifidobakterii składającą się z czterech szczepów *Lactobacillus bifidus* o symbolach: 62, J, 567, 6459, łączonych odpowiednio w proporcji 0,63 : 0,33 : 2,0 : 2,0, która charakteryzuje się normalną zdolnością ukwaszania mleka, wysoką odpornością na działanie niekorzystnych czynników fizjologicznych: niskie pH, fizjologiczne stężenia soli żółciowych, które mogą występować w przewodzie pokarmowym, oraz na antybiotyki lecznicze.