



(51) МПК

A23C 9/12 (2006.01)*A23C 9/13* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2005106804/13, 09.03.2005

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
09.03.2005

(43) Дата публикации заявки: 20.08.2006

(45) Опубликовано: 10.03.2007 Бюл. № 7

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: RU 2178645 C2, 27.01.2002. RU 2189753
C1, 27.09.2002. RU 2080072 C1, 27.05.1997. RU
2187229 C1, 0.08.2002. ТУ 10-8-08-21-92.
Закваска бифидобактерий сухая.

Адрес для переписки:

670013, г.Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40в,
стр.1, ВСГТУ, ОИС

(72) Автор(ы):

Хамагаева Ирина Сергеевна (RU),
Бадлуева Александра Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

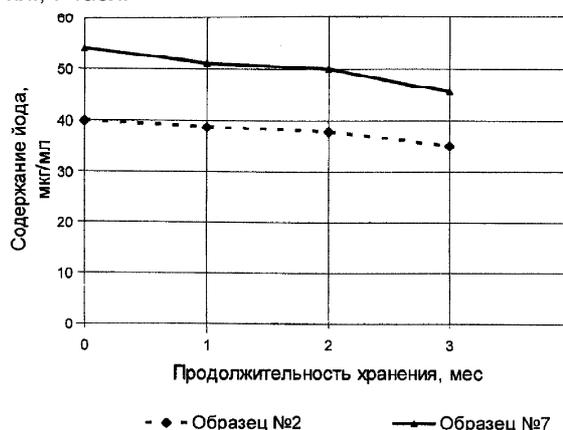
Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
Восточно-Сибирский государственный
технологический университет (RU),
Хамагаева Ирина Сергеевна (RU)

(54) СПОСОБ ПРОИЗВОДСТВА ЙОДИРОВАННЫХ ПРОДУКТОВ

(57) Реферат:

Изобретение относится к пищевой промышленности и может быть использовано при производстве йодированных пробиотических продуктов на молочной основе. Способ предусматривает проведение процессов подготовки питательной среды, внесения раствора йодистого калия, тепловой обработки, охлаждения, внесения инокулята, культивирования, охлаждения, розлива, упаковки. При этом в качестве питательной среды используют осветленную творожную сыворотку, а в качестве инокулята - закваску пропионовокислых бактерий штамма *P.freudenreichii subsp. shermanii* или закваску бифидобактерий штамма *bifidobacterium longum* В 379 М. Раствор йодистого калия вносят в питательную среду перед внесением инокулята в количестве 57-67 мкг/мл при использовании в качестве закваски пропионовокислых бактерий, и в количестве 52-57 мкг/мл при использовании в качестве закваски бифидобактерий. А после окончания процесса культивирования отделяют

сыворотку для получения бактериальной суспензии клеток. Изобретение позволяет повысить усвояемость йода организмом, сохранить высокое содержание йода в продукте при хранении, а также повысить биологическую ценность и антимутагенную активность готовых продуктов. 1 ил., 7 табл.





FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

A23C 9/12 (2006.01)**A23C 9/13** (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2005106804/13, 09.03.2005**(24) Effective date for property rights: **09.03.2005**(43) Application published: **20.08.2006**(45) Date of publication: **10.03.2007 Bull. 7**

Mail address:

**670013, g.Ulan-Udeh, ul. Ključevskaja, 40v,
str.1, VSGTU, OIS**

(72) Inventor(s):

**Khamagaeva Irina Sergeevna (RU),
Badlueva Aleksandra Vladimirovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Gosudarstvennoe obrazovatel'noe uchrezhdenie
vysshego professional'nogo obrazovanija
Vostočno-Sibirskij gosudarstvennyj
tehnologičeskij universitet (RU),
Khamagaeva Irina Sergeevna (RU)**(54) **METHOD FOR PRODUCTION OF IODINATED PRODUCTS**

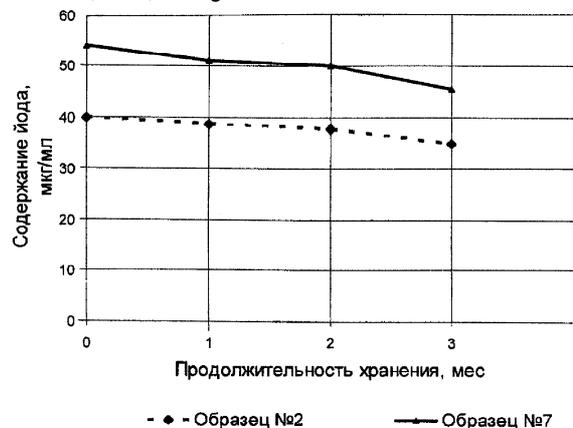
(57) Abstract:

FIELD: food processing industry, in particular production of dairy-based iodinated probiotic products.

SUBSTANCE: claimed method includes preparation of nutrient medium, introducing of potassium iodide solution, heat treatment, cooling, inoculate adding, culturing, cooling, bottling and packing. As nutrient medium clarified curd whey is used, and as inoculate ferment of propionic-acid bacterium strain *P. freudenreichii* subsp. *Shermanii* or ferment of bifidobacterium strain *bifidobacterium longum* B 379 M. Potassium iodide solution is introduced into nutrition medium before inoculate adding in amount of 57-67 mug/ml when propionic-acid bacteria are used as ferment; and in amount of 52-57 mug/ml when bifidobacteria are used as ferment. After cultivation process whey is separated to produce of bacterial cell suspension.

EFFECT: product with increased iodine content, higher biological value and antimutagenic activity, and increased iodine digestion.

7 tbl, 2 ex, 1 dwg



Предлагаемое изобретение относится к биотехнологии и может быть использовано при производстве йодированных пробиотических продуктов на молочной основе.

Известен способ производства йодированного молочного белка - казеина (см. ТУ 9229-001-48363077-99 НПП "Медбиофарм"), предусматривающий йодирование тирозина, содержащегося в казеине, под воздействием однохлористого йода с образованием йодтирозина и дийодтирозина.

Недостатком данного способа является то, что йододефицит обусловлен не только недостаточным поступлением йода в организм извне, но и нарушениями в функционировании различных органов пищеварительной системы, что отрицательно влияет на усвояемость йода организмом. Поэтому даже регулярное употребление йодказеина не может полностью решить проблему гипертиреоза.

Наиболее близким по технической сущности к предлагаемому изобретению является способ производства йодированного кефира, предусматривающий подготовку среды, тепловую обработку, охлаждение, внесение источника йода - йодказеина, заквашивание, перемешивание, ферментацию, перемешивание, охлаждение, розлив, упаковку (см. ТУ 9206-005-48363077-00 МРНЦ РАМН, НПП "Медбиофарм", Управление пищевой и перерабатывающей промышленности Департамента сельского хозяйства и продовольствия Калужской области).

Но продукт, полученный при данном способе производства, не содержит пробиотические микроорганизмы, способные приживаться в желудочно-кишечном тракте, что значительно снижает его биологическую ценность.

Авторами изобретения решалась задача о возможности использования ферментной системы пробиотических микроорганизмов для йодирования с целью производства продуктов, не только содержащих йод, но и оказывающих положительное влияние на состояние желудочно-кишечного тракта. Из литературных источников известно, что реакция йодирования может протекать при расщеплении белков. Ферменты, выделяемые микроорганизмами, способны расщеплять белки питательной среды до аминокислот, в том числе тирозина и гистидина и др. Последние способны образовывать с йодом прочные соединения. Реакция йодирования может проходить и при синтезе белков микроорганизмами.

Также анализ литературных данных показал, что нарушения функции щитовидной железы возникают при некоторых заболеваниях желудочно-кишечного тракта, например при недостаточной всасываемости йода в тонком отделе кишечника. Поэтому исследования были направлены на устранение самой причины возникновения йодной недостаточности.

Технический результат изобретения заключается в повышении усвояемости йода организмом, сохранении высокого содержания йода в продукте при хранении, а также в повышении биологической ценности и антимуtagenной активности готовых продуктов.

Указанный технический результат достигается тем, что в способе производства йодированных продуктов, предусматривающем подготовку питательной среды, тепловую обработку, охлаждение, внесение источника йода и инокулята, перемешивание, ферментацию, охлаждение, розлив, упаковку, согласно изобретению в качестве источника йода используют раствор йодистого калия в количестве 52-67 мкг/мл, а в качестве инокулята закваску на чистых культурах пробиотических микроорганизмов.

Кроме того, указанный технический результат достигается тем, что в качестве инокулята используют закваску пропионовокислых бактерий штамм *P.Shermanii freudenreichii* subsp. *shermanii*.

Кроме того, указанный технический результат достигается тем, что в качестве инокулята используют закваску бифидобактерий штамм *bifidobacterium longum* 379 M.

Отличительными признаками заявляемого изобретения являются новые условия осуществления процесса ферментации, а именно внесение в питательную среду раствора йодистого калия и заквашивание закваской на чистых культурах пробиотических микроорганизмов.

Использование пробиотических микроорганизмов, которые являются регуляторами микробиоценоза кишечника, от деятельности которого зависит состояние всего организма, позволит наладить механизм проникновения йода в щитовидную железу, обеспечит поступление в организм лучше усваиваемой органической формы йода.

5 Результаты исследований показали, что при внесении раствора йодистого калия в среду, содержащую тирозин, гистидин, происходит реакция замещения йода в бензольном кольце ароматических аминокислот.

10 Существенным отличием заявляемого изобретения является новый подход к разработке йодированных продуктов за счет использования ферментной системы пробиотических микроорганизмов.

Экспериментальные исследования изобретения проводились в лабораториях кафедр "Технология молочных продуктов. Товароведение и экспертиза товаров" ВСГТУ, "Микробиология" МГУ им. М.В.Ломоносова, в проблемной лаборатории ВСГТУ.

15 Для проведения экспериментальных исследований использовали творожную сыворотку, в которую вносили питательные вещества, необходимые для роста микроорганизмов. В полученную среду вносили раствор йодистого калия, заквашивали чистыми культурами пробиотических микроорганизмов. Были подготовлены следующие образцы:

Образец №1 - питательная среда, ферментированная чистыми культурами бифидобактерий - Контроль 1,

20 Образец №2 - питательная среда, ферментированная чистыми культурами бифидобактерий с добавлением раствора йодистого калия в количестве 52 мкг/мл,

Образец №3 - питательная среда, ферментированная чистыми культурами бифидобактерий с добавлением раствора йодистого калия в количестве 57 мкг/мл,

25 Образец №4 - питательная среда, ферментированная чистыми культурами бифидобактерий с добавлением раствора йодистого калия в количестве 67 мкг/мл,

Образец №5 - питательная среда, ферментированная чистыми культурами пропионовокислых бактерий - Контроль 2,

30 Образец №6 - питательная среда, ферментированная чистыми культурами пропионовокислых бактерий с добавлением раствора йодистого калия в количестве 57 мкг/мл,

Образец №7 - питательная среда, ферментированная чистыми культурами пропионовокислых бактерий с добавлением раствора йодистого калия в количестве 67 мкг/мл,

35 Образец №8 - питательная среда, ферментированная чистыми культурами пропионовокислых бактерий с добавлением раствора йодистого калия в количестве 76 мкг/мл.

В образцы №1, 2, 3, 4 вносили закваску на чистых культурах бифидобактерий, в образцы №5, 6, 7, 8 закваску на чистых культурах пропионовокислых бактерий в количестве 5% от массы питательной среды.

40 В полученных образцах определяли следующие показатели:

- Нарращивание биомассы
- Содержание жизнеспособных клеток микроорганизмов
- Содержание йода

Исследования проводили по общепринятым методикам.

45 - Антимутагенная активность

Исследования проводили с использованием теста Эймса.

- Гистоморфологические исследования

Исследования проводили микроскопированием окрашенных препаратов.

- Содержание тиреоидных гормонов

50 Исследования проводили трехфазным иммуноферментным методом с использованием стандартных наборов ИФА-ТТ₄, ИФА-ТТ₃ производства НВО "Иммунотех".

В результате исследований были подобраны оптимальные дозы раствора йодистого калия, не задерживающие рост пробиотических микроорганизмов, которые составили 57-67

мкг/мл для пропионовокислых бактерий (образцы №6, №7) и 52-57 мкг/мл для бифидобактерий (образцы №2, №3).

Результаты представлены в таблицах 1, 2.

5

Образцы №	Продолжительность культивирования, час			
	4	8	18	24
Образец №1	8.10 ⁵	8.10 ⁷	2.10 ⁹	4.10 ¹¹
Образец №2	8.10 ⁵	6.10 ⁷	3.10 ⁹	4.10 ¹¹
Образец №3	1.10 ⁵	3.10 ⁷	5.10 ⁸	8.10 ¹⁰
Образец №4	8.10 ⁴	7.10 ⁶	9.10 ⁷	7.10 ⁹

10

Доза йода, мкг/мл	Продолжительность культивирования, час			
	6	12	18	24
Образец №5	8.10 ⁶	9.10 ⁹	5.10 ¹⁰	7.10 ¹²
Образец №6	3.10 ⁷	1.10 ¹⁰	6.10 ¹⁰	7.10 ¹²
Образец №7	9.10 ⁶	9.10 ⁹	1.10 ¹⁰	8.10 ¹²
Образец №8	1.10 ⁶	4.10 ⁸	9.10 ⁹	1.10 ¹¹

15

Далее изучали содержание йода в йодированных концентратах. Полученные результаты указывают на то, что в образце 2 содержится около 77% йода, а в образце 7 содержание йода составило 85%. Отмечено более высокое содержание йода в бактериальном концентрате пропионовокислых бактерий, что объясняется тем, что в процессе их метаболизма образуется пероксидаза, которая увеличивает скорость реакции и способствует более полному йодированию. Остальная часть йода взаимодействует с растворимыми пептидами сыворотки и остается в культуральной жидкости. Результаты исследований представлены в таблице 3.

20

25

Образцы №	Содержание йода, мкг/мл
Образец №2	40,15
Образец №3	42,8
Образец №4	43
Образец №6	46,8
Образец №7	57,4
Образец №8	55,6

30

Таким образом, исходя из вышеизложенного, установлено оптимальное количество вводимого раствора йодистого калия - 52-67 мкг/мл.

35

Далее изучали сроки хранения йодированных бактериальных концентратов. Результаты представлены на чертеже. При изучении сроков хранения установлено, что к концу 3 месяца хранения содержание йода в образце №2 снизилось на 10,2%, а в образце №7 - на 9,9%. Несущественные изменения количества йода можно объяснить тем, что йод в бактериальных концентратах находится в связанном состоянии, что препятствует его улетучиванию. Это позволяет сохранить высокое содержание йода в продукте в процессе хранения.

40

Бактерии как источники антимуtagens представляют несомненный интерес как профилактические пищевые добавки для активации естественных систем репарации и для создания медицинских препаратов нового типа с антимугагенными свойствами.

45

Поэтому в дальнейших исследованиях изучали антимугагенную активность йодированных бактериальных концентратов. Результаты исследований представлены в таблице 4.

50

Вид микроорганизмов; среда	Время культивирования, час	Среднее число ревертантов на чашку	Ингибирование, %
Бифидобактерии: Среда для культивирования	48	885	20

Культуральная жидкость	48	710	30
Клетки	48	134	62
Пропионовокислые бактерии:			
Среда для культивирования	48	885	20
Культуральная жидкость	48	628	35
Клетки	48	70	71,6

5

В результате экспериментальных исследований установлено, что культуральная жидкость и клетки пропионовокислых бактерий и бифидобактерий обладают антимутагенным действием в отношении мутагенеза, индуцируемого 4-нитрохиолин-N-оксидом. Наиболее сильное антимутагенное действие обнаружено у культуральной жидкости и клеток пропионовокислых бактерий, достигающее соответственно 35% и 71,6% ингибирования. Возможно это объясняется тем, что пропионовокислые бактерии синтезируют значительные количества антиокислительных ферментов: супероксиддисмутазы, пероксидазы и каталазы. Одновременное присутствие этих ферментов позволяет клетке удалять супероксидные и пероксидные радикалы, образованные в окислительных реакциях.

15

Для подтверждения эффективности способа производства йодированных продуктов на основе бактериальных концентратов бифидобактерий и пропионовокислых бактерий была проведена экспериментальная проверка последних на крысах линии Вистар. О степени усвояемости йода судили по содержанию тиреоидных гормонов в сыворотке крови и гистоморфологическим исследованиям щитовидных желез крыс Вистар.

20

В экспериментах введение мерказолила животным в дозе 25 мг/кг в течение 14 дней привело к гипотиреозу. Полученные данные представлены в таблице 5.

25

№	Группа животных	Доза	Уровень тиреоидных гормонов, нмоль/л		
			T ₄ общий	T ₄ св.	T ₃
1	Интактные	-	118,6	25,6	1,8
2	Мерказолил	25 мкг	61,5	15,92	0,95
3	Мерказолил + Йодбифионикс	50 мкг	133,3	24,86	1,59
4	Мерказолил + Йодпропионикс	50 мкг	117,3	27,1	1,93
5	Мерказолил + "KI 200"	50 мкг	104,3	24,75	1,38

30

Как видно из таблицы 5, применение йодированных концентратов в течение 14 дней способствует восстановлению показателей тироксина и трийодтиронина в сыворотке крови до уровня таковых интактных животных при мерказолиловом гипотиреозе. Введение йодированных концентратов более эффективно по сравнению с введением "KI 200". Наличие данного эффекта, по-видимому, можно объяснить тем, что ферментная система микроорганизмов способствует более полному усвоению йода организмом животных.

35

Отмечено, что действие йодированного концентрата пропионовокислых бактерий более эффективно по сравнению с йодированным концентратом бифидобактерий, так как содержание связанного тироксина и трийодтиронина у первого выше.

40

Возможно, это объясняется тем, что пероксидаза, синтезируемая пропионовокислыми бактериями, катализирует реакцию присоединения йода.

45

На следующем этапе изучали изменение морфологического строения щитовидных желез животных различных экспериментальных групп. Результаты экспериментов отражены в таблицах 6 и 7.

50

Группа	Фолликулярный эпителий	Парафолликулярные эндокриноциты	Коллоид	Сосудистое русло	Соединительная ткань	Фолликулярно-коллоидный индекс
Интактные	45,86 \pm 0,27	14,15 \pm 0,34	20,05 \pm 0,26	12,96 \pm 0,27	7,39 \pm 0,21	2,29 \pm 0,11
Мерказолил	49,56 \pm 1,04	24,96 \pm 0,91	8,96 \pm 0,11	16,12 \pm 0,93	3,25 \pm 0,17	5,53 \pm 0,38

Мерказолил + Йодбифионикс	46,02±1,17	15,18±0,47	20,62±0,68	12,07±0,81	6,11±0,27	2,23±0,24
Мерказолил + Йодпропионикс	45,89±0,25	15,12±0,36	20,53±0,45	12,02±0,26	7,68±0,15	2,24±0,31
Мерказолил + Калия иодид 200	47,56±0,26	17,58±0,41	18,26±0,24	14,06±0,29	5,87±0,31	2,6±0,19
Таблица 7 Морфометрические показатели составных компонентов фолликулов щитовидной железы крыс, (мкм), M±m, n=10						
Группа	Диаметр фолликула (D)	Высота тироцита (h)	Диаметр ядра тироцита (d)			
Интактные	22,62±0,28	6,58±0,29	3,24±0,68			
Мерказолил	18,39±0,49	7,51±0,76	5,2±0,64			
Мерказолил + Йодбифионикс	22,02±0,47	6,91±0,11	3,84±0,14			
Мерказолил + Йодпропионикс	22,59±0,34	6,95±0,58	3,45±0,25			
Мерказолил + Калия иодид 200	20,87±0,25	7,03±0,33	4,23±0,36			

Таким образом, установлено, что тиреостатическое действие мерказолила в дозе 25 мг/кг в течение 14 дней приводит к функциональному перенапряжению щитовидной железы, что, возможно, объясняется как прямым действием на тироциты, так и опосредованным, через гипоталамо-гипофизарную регуляцию. Результаты исследований выявили, что применение йодированных концентратов бифидобактерий и пропионовокислых бактерий в дозе 50 мкг/мг в течение 14 дней восстанавливает у животных функциональную зависимость щитовидной железы до уровня интактных животных.

Из вышеизложенного следует, что использование в заявляемом способе закваски на чистых культурах бифидобактерий и пропионовокислых бактерий способствует образованию прочных йодсодержащих органических соединений, которые хорошо усваиваются организмом, и содержащийся в их составе йод участвует в образовании тиреоидных гормонов. Кроме того, разработанные продукты обладают высокой биологической ценностью и антимуtagenной активностью.

Таким образом, в ходе экспериментальных исследований доказано, что именно заявляемая совокупность отличительных признаков изобретения обеспечивает достижение указанного выше технического результата. Это позволяет сделать вывод о соответствии заявленного технического решения критериям патентоспособности "новизна" и "изобретательский" уровень.

В заявляемом способе используют закваску на чистых культурах бифидобактерий, изготовленную по ТУ 9229-002-02069473-2005, закваску на чистых культурах пропионовокислых бактерий, изготовленную по ТУ 9229-007-02069473-2005.

Заявляемый способ осуществляют следующим образом.

После подготовки питательной среды проводят ее раскисление до pH среды в пределах (7,0-7,1). Готовую среду стерилизуют при температуре (120±1)°C в течение 30 минут, затем охлаждают до температуры (30-40)°C. В питательную среду вносят раствор йодистого калия, заквашивают закваской на чистых культурах пробиотических микроорганизмов. Нарращивание клеток микроорганизмов проводят при температуре (30-40)°C в течение (24±2) ч в условиях периодического культивирования при однократной нейтрализации культуральной жидкости через 12 часов, поддерживая pH на оптимальном уровне насыщенным стерильным раствором углекислого натрия (Na₂CO₃). После окончания процесса культивирования отделяют сыворотку для получения бактериальной суспензии клеток, которую охлаждают до температуры (4±2)°C, разливают в стерильные флаконы, укупоривают, хранят.

Способ поясняется следующими примерами конкретного выполнения.

Пример 1.

Средой для наращивания бифидобактерий служит осветленная творожная сыворотка с добавлением буферных солей, аскорбиновой кислоты и агара. Осветление творожной сыворотки проводят путем нагревания до температуры 95°C и выдерживания для более полного выделения белков в течение 60 мин. После этого сыворотку осветляют путем

фильтрования.

После подготовки питательной среды проводят ее раскисление до pH среды 7,0.

Готовую среду стерилизуют при температуре 120°C в течение 30 минут, затем охлаждают до температуры 37°C. В питательную среду вносят 10%-ный раствор йодистого калия в

5 количестве 52 мкг/мл, заквашивают закваской на чистых культурах бифидобактерий. Нарращивание клеток бифидобактерий проводят при температуре 37°C в течение 24 ч в условиях периодического культивирования при однократной нейтрализации культуральной жидкости через 12 часов, поддерживая pH на оптимальном уровне насыщенным стерильным раствором углекислого натрия (Na_2CO_3). После окончания процесса

10 культивирования отделяют сыворотку для получения бактериальной суспензии клеток, которую охлаждают до температуры 4°C, разливают в стерильные флаконы, укупоривают стерильными резиновыми пробками в асептических условиях и закатывают алюминиевыми колпачками на полуавтомате, наклеивают этикетку, хранят.

Пример 2.

15 Средой для наращивания пропионовокислых бактерий служит осветленная творожная сыворотка с добавлением буферных солей, аскорбиновой кислоты и агара. Осветление творожной сыворотки проводят путем нагревания до температуры 95 С и выдерживают ее для более полного выделения белков в течение 60 мин. После этого сыворотку осветляют путем фильтрования.

20 После подготовки питательной среды проводят ее раскисление до pH среды 7,0.

Готовую среду стерилизуют при температуре 120°C в течение 30 минут, затем охлаждают до температуры 30°C. В питательную среду вносят 10%-ный раствор йодистого калия в

25 количестве 67 мкг/мл, заквашивают закваской на чистых культурах пропионовокислых бактерий. Нарращивание клеток пропионовокислых бактерий проводят при температуре 30°C в течение 24 ч в условиях периодического культивирования при однократной нейтрализации культуральной жидкости через 12 часов, поддерживая pH на оптимальном уровне насыщенным стерильным раствором углекислого натрия (Na_2CO_3). После окончания процесса культивирования отделяют сыворотку для получения бактериальной

30 суспензии клеток, которую охлаждают до температуры 4°C, разливают в стерильные флаконы, укупоривают стерильными резиновыми пробками в асептических условиях и закатывают алюминиевыми колпачками на полуавтомате, наклеивают этикетку, хранят.

Формула изобретения

35 Способ производства йодированных молочных продуктов с проведением процессов подготовки питательной среды, внесения раствора йодистого калия, тепловой обработки, охлаждения, внесения инокулята, культивирования, охлаждения, розлива, упаковки, отличающийся тем, что в качестве питательной среды используют осветленную творожную сыворотку, в качестве инокулята используют закваску пропионовокислых бактерий штамма

40 *P.freudenreichii subsp. shermanii* или закваску бифидобактерий штамма *Bifidobacterium longum* В 379 М, раствор йодистого калия вносят в питательную среду перед внесением инокулята в количестве 57-67 мкг/мл при использовании в качестве закваски пропионовокислых бактерий и в количестве 52-57 мкг/мл при использовании в качестве закваски бифидобактерий, а после окончания процесса культивирования отделяют

45 сыворотку для получения бактериальной суспензии клеток.