



(51) МПК  
**A23C 9/127** (2006.01)  
**A23C 21/02** (2006.01)  
**A23N 1/02** (2006.01)  
**A23L 1/30** (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
 ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: **2006120348/13**, 09.06.2006

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
**23.12.2004**

(43) Дата публикации заявки: **27.12.2007**

(45) Опубликовано: **20.05.2008** Бюл. № 14

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
 поиске: **SU 1082371 A**, 30.03.1984. **SU 1242097**  
**A1**, 07.07.1986. **RU 2178646 C2**, 27.01.2002. **RU**  
**2080795 C1**, 10.06.1997.

(62) Номер и дата подачи первоначальной заявки, из  
 которой данная заявка выделена: **2004137758**  
**23.12.2004**

Адрес для переписки:  
**670013, Республика Бурятия, г.Улан-Удэ, ул.**  
**Ключевская, 40в, стр.1, ВСГТУ, ОИС**

(72) Автор(ы):

**Хамагаева Ирина Сергеевна (RU),**  
**Занданова Туяна Нимбуевна (RU),**  
**Креккер Людмила Геннадьевна (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

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

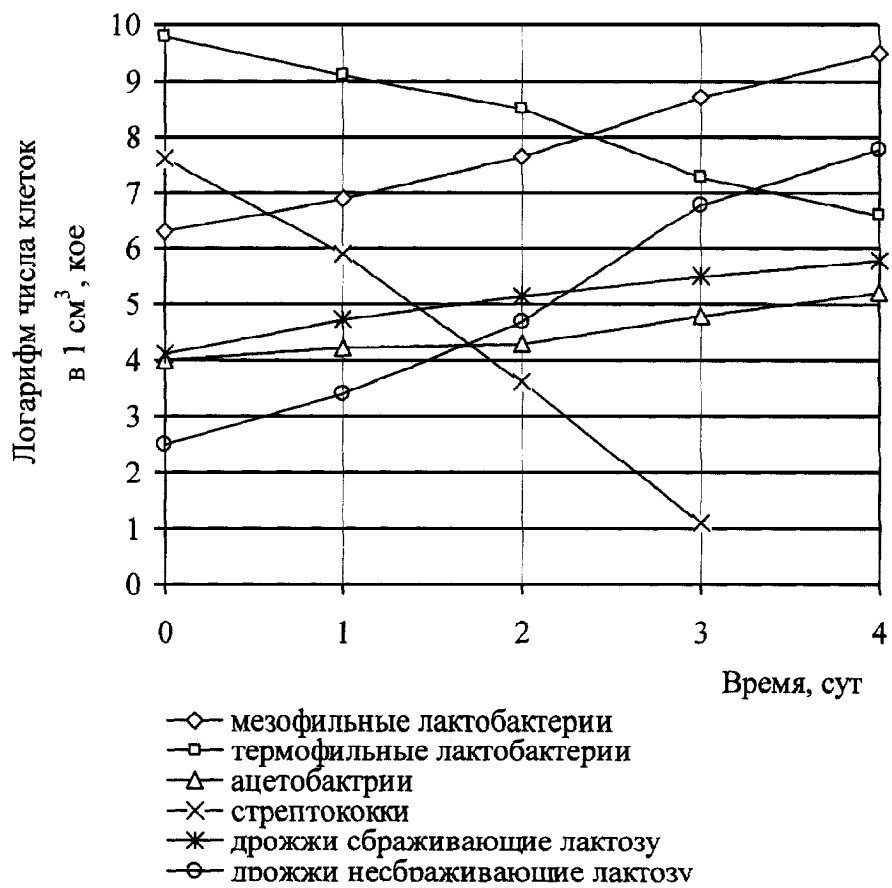
## (54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЖИДКОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО КОНЦЕНТРАТА И ПРИМЕНЕНИЕ ЕГО В КАЧЕСТВЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ДОБАВКИ К ПИЩЕ

(57) Реферат:

Способ предусматривает приготовление питательной среды на основе молочной сыворотки и картофельного отвара, внесение симбиотической закваски, полученной методом культивирования кефирной грибковой закваски и термофильных лактобактерий (болгарской и ацидофильной палочек) при температуре  $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$  в течение 2-3 суток, накопление биомассы симбиотической

закваски в условиях периодического культивирования при двукратной нейтрализации среды и отделение полученной биомассы. Кефирная грибковая закваска и термофильные лактобактерии могут быть использованы в следующих соотношениях 1:0,5:0,5 или 3:0,5:0,5. Способ позволяет повысить кислотообразующую и спиртовую способность закваски и увеличить количество дрожжей. 2 н. и 2 з.п. ф-лы, 4 табл., 5 ил.

Динамика количественного соотношения микроорганизмов в процессе культивирования при 30<sup>0</sup>С



Фиг. 1

RU 2 3 2 4 3 5 9 C 2

RU 2 3 2 4 3 5 9 C 2



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,  
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

**A23C 9/127** (2006.01)**A23C 21/02** (2006.01)**A23N 1/02** (2006.01)**A23L 1/30** (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2006120348/13, 09.06.2006**(24) Effective date for property rights: **23.12.2004**(43) Application published: **27.12.2007**(45) Date of publication: **20.05.2008 Bull. 14**(62) Number and date of filing of the initial application, from which the given application is allocated: **2004137758 23.12.2004**

Mail address:

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

(72) Inventor(s):

**Khamagaeva Irina Sergeevna (RU),  
Zandanova Tujana Nimbuevna (RU),  
Krekker Ljudmila Gennad'evna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Gosudarstvennoe obrazovatel'noe uchrezhdenie  
vysshego professional'nogo obrazovanija  
Vostočno-Sibirskij gosudarstvennyj  
tehnologičeskij universitet (RU),  
Khamagaeva Irina Sergeevna (RU)**(54) **METHOD OF LIQUID BACTERIAL CONCENTRATE RECEIVING AND ITS APPLIANCE AS DIETARY SUPPLEMENTS**

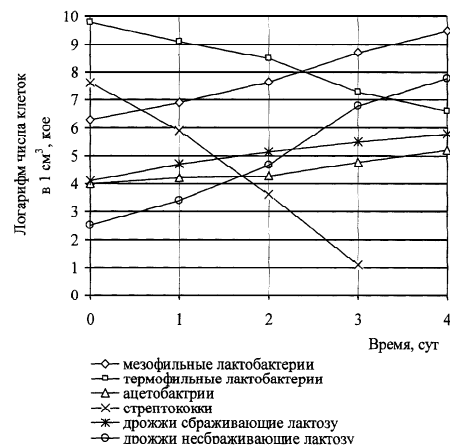
(57) Abstract:

FIELD: production technology of food products.

SUBSTANCE: method supposes the medium making on the basis of milk whey and potato decoct and inoculation of symbiotic starter received from the cultivation of fungus culture and termophilic lactic acid bacillus (Bulgarian and acidophilous bacterium) at the temperature  $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$  during 2-3 days. Concentration of symbiotic biomass in conditions of batch fermentation with double medium neutralization and the received biomass separation. Fungus culture and termophilic lactic acid bacillus can be used in following correspondence 1:0.5:0.5 or 3:0.5:0.5.

EFFECT: this method increases acid-forming and spirit medium ability as well as increase the quantity of yeast.

4 cl, 4 tbl, 5 dwg, 8 ex

Динамика количественного соотношения микроорганизмов в процессе культивирования при  $30^\circ\text{C}$ 

Фиг. 1

Группа изобретений относится к биотехнологии и может быть использована для приготовления жидких бактериальных концентратов «Курунгин» или «Кумысин», применяемых в качестве биологически активных добавок к пище.

Известен способ получения закваски для приготовления кисломолочного напитка типа «Курунга», предусматривающий ферментацию обезжиренного молока кефирной грибковой закваской и хлебными крошками в соотношении 1,5:0,5 в течение 8 часов до образования сгустка кислотностью 120°Т в деревянной таре [Патент №2059380, Россия, МКИ А23С 9/12, Способ получения закваски для приготовления сброженного продукта типа «Курунга», опубл. 10.05.96, бюл. №13].

Однако кислотность продукта, полученного по вышеуказанному способу, низкая, что не обеспечивает соответствие органолептическим свойствам курунги, которая должна иметь кислотность 180-200°Т. Следует отметить, что хлебные крошки являются источниками дрожжей *Sacch.cerevisiae*, не характерных для микрофлоры курунги. Данные о предпочтительном культивировании закваски в деревянной таре свидетельствуют о нестабильности симбиоза микрофлоры кефирной грибковой закваски и хлебных крошек. Предлагаемая продолжительность культивирования закваски - 8 часов, недостаточна для достижения наиболее активной стадии развития лактобактерий и дрожжей, продуцирующих антибиотические вещества, витамины и др.

В связи с указанными причинами известный способ не позволяет получить закваску с характерными для курунги качественными показателями. Кроме этого, вышеуказанный способ не обеспечивает стойкости заквасок к длительному хранению.

Наиболее близким по технической сущности к предлагаемому изобретению является способ приготовления бактериального концентрата, предусматривающий приготовление питательной среды на основе молочной сыворотки, внесение инокулята, культивирование, раскисление питательной среды, отделение полученной биомассы (см. SU 1082371 А, А23С 9/12; С12N 1/20, 30.03.84 "Способ получения бактериального концентрата").

К причинам, препятствующим достижению указанного ниже технического результата при использовании вышеуказанного способа, принятого за прототип, относится то, что в известном способе получения бактериального концентрата в питательную среду вносят культуру уксуснокислых бактерий, после чего инокулируют молочнокислыми стрептококками, что не обеспечивает в готовом продукте необходимую кислотность, содержание спирта и летучих органических соединений.

Таким образом, при производстве жидких бактериальных концентратов "Кумысин" и "Курунгин", используемых в качестве биологически активных добавок к пище, основной задачей является подбор условий культивирования кефирной закваски и термофильных лактобактерий для достижения оптимального соотношения микроорганизмов, близкого к естественной микрофлоре кумыса и курунги.

Технический результат заявленной группы изобретений заключается в повышении кислотообразующей и спиртообразующей способности закваски и увеличении количества дрожжей.

Указанный технический результат, при осуществлении изобретения, достигается тем, что в способе приготовления жидкого бактериального концентрата, предусматривающем приготовление питательной среды на основе осветленной молочной сыворотки, внесение инокулята, культивирование, раскисление питательной среды, отделение полученной биомассы, согласно изобретению для активизации роста дрожжей в процессе приготовления питательной среды в молочнокислую сыворотку вносят картофельный отвар в количестве 7-10%, а в качестве инокулята для заквашивания питательной среды используют закваску, полученную путем культивирования кефирной грибковой закваски и термофильных лактобактерий (болгарской и ацидофильной палочки) при температуре (30±2)°С в течение 2-3 суток.

Кроме того, особенность способа заключается в том, что для получения жидкого бактериального концентрата "Кумысин" кефирную грибковую закваску и термофильные лактобактерии (болгарскую и ацидофильную палочки) берут в соотношении 3:0,5:0,5

соответственно.

Кроме того, особенность способа заключается в том, что для получения жидкого бактериального концентрата "Курунгин" кефирную грибковую закваску и термофильные лактобактерии (болгарскую и ацидофильную палочки) берут в соотношении 1:0,5:0,5

5 соответственно.

Указанный технический результат достигается также при применении жидкого бактериального концентрата "Курунгин" или "Кумысин" в качестве биологически активной добавки к пище.

10 Отличительными признаками заявляемого изобретения являются новые условия культивирования, а именно использование в качестве инокулята закваски, полученной методом культивирования кефирной грибковой закваски и термофильных лактобактерий, а также внесение в питательную среду картофельного отвара в количестве 7-10%.

15 Кроме того, отличительной особенностью заявляемого изобретения является применение жидкого бактериального концентрата "Курунгин" или "Кумысин", полученного предлагаемым способом, в качестве биологически активных добавок к пище.

Следует отметить, что способы приготовления курунговой и кумысной заквасок близки по технологии и составу микрофлоры. Основными компонентами являются различные виды дрожжей, мезофильных и термофильных лактобактерий, уксуснокислые бактерии, которые находятся в различных соотношениях в естественных заквасках.

20 Многокомпонентность микрофлоры является основной проблемой, затрудняющей создание заквасок и их промышленное производство.

Известно, что микрофлора кефирной грибковой закваски представляет собой сложный симбиоз различных видов микроорганизмов, характерных для курунги и кумыса. Кроме того, установлено, что микрофлора кефирной закваски обладает уникальной способностью к саморегуляции состава в зависимости от воздействия физико-химических факторов и состава питательной среды.

Исходя из этого, нами была выдвинута гипотеза о возможности получения из кефирной грибковой закваски путем создания определенных условий культивирования популяции микроорганизмов, идентичной консорциуму микроорганизмов естественной курунговой и кумысной заквасок.

30 Характерной особенностью курунги является почти параллельное развитие молочнокислого и спиртового брожения. Необходимо отметить, что развитие дрожжей находится в весьма сильной зависимости от хода молочнокислого процесса. Для их роста благоприятна кислая реакция среды. Поскольку грибковая закваска не обладает высокой кислотностью, с целью активизации кислотообразования в начальной стадии культивирования в закваску введены чистые культуры болгарской и ацидофильной палочек.

40 Повышение температуры культивирования до 30°C стимулирует развитие дрожжевой микрофлоры и термофильных лактобактерий. В связи с этим, исследование по подбору соотношения культур в закваске проводили при 30°C с учетом развития дрожжевой микрофлоры и активности спиртового брожения. Экспериментальные данные представлены в таблице 1.

45 Из таблицы 1 видно, что соотношение 1:0,5:0,5 наиболее благоприятно для спиртового брожения. При этом соотношении созданы оптимальные рН среды, стимулирующие развитие дрожжей. Дальнейшее повышение количества активных кислотообразователей приводит к подавлению спиртового брожения молочнокислым из-за недостаточного количества дрожжевых клеток, отличающихся более длительным инкубационным периодом развития, чем лактобактерии.

50

Таблица 1. Подбор соотношения кефирной грибковой закваски, болгарской и ацидофильной палочек в курунговой закваске			
Показатели	Варианты соотношения кефирной грибковой закваски: <i>L.bulgaricum</i> : <i>L.acidophilum</i>		
	1:0,7:0,7	1:0,5:0,5	1:0,3:0,3
Продолжительность культивирования, ч	48	48	48
Титруемая кислотность, °Т	270	220	180

Активная кислотность, pH	2,9	3,6	4,1
Массовая доля молочной кислоты, %	2,2	1,8	1,4
Массовая доля спирта, % об.	0,4	0,5	0,2
Общее количество дрожжей, КОЕ в 1 см <sup>3</sup>	3·10 <sup>2</sup>	5·10 <sup>5</sup>	2·10 <sup>3</sup>

5 С другой стороны, при увеличении количества кефирной грибковой закваски начало спиртового брожения задерживается из-за недостаточной кислотности среды.

Таким образом, оптимальным соотношением кефирной грибковой закваски, ацидофильной и болгарской палочек для создания курунговой закваски является 1:0,5:0,5, соответственно.

10 Активность, биохимические и органолептические показатели закваски зависят от количественного состава всех групп микроорганизмов. Температура культивирования является одним из основных физических факторов, регулирующих микробиологические процессы.

15 В дальнейших исследованиях изучали влияние температуры культивирования на динамику микробиологических процессов в симбиотической закваске.

Полученные результаты представлены на фиг.1 и 2.

Анализ данных, представленных на фиг.1 и 2, показывает, что повышение температуры культивирования закваски до 30°C (фиг.1) интенсифицирует развитие мезофильных молочнокислых бактерий и дрожжей. При этом pH снижается сравнительно быстро (за 48 часов) до значения 3,5. Было отмечено торможение развития и отмирание клеток мезофильных стрептококков и ароматообразующих бактерий, чувствительных к кислоте. Для развития остальных групп микроорганизмов, как более кислотоустойчивых, при повышении температуры создаются более благоприятные условия. В результате в готовой закваске накапливаются мезофильные лактобактерии 3·10<sup>9</sup> КОЕ в 1 см<sup>3</sup>, дрожжи, не сбраживающие лактозу, 8·10<sup>7</sup> КОЕ в 1 см<sup>3</sup>, термофильные лактобактерии 7·10<sup>5</sup> КОЕ в 1 см<sup>3</sup> и дрожжи, сбраживающие лактозу, 4·10<sup>5</sup> КОЕ в 1 см<sup>3</sup>.

Полученные данные свидетельствуют о том, что температура культивирования 30°C стимулирует активное размножение дрожжевой микрофлоры и ускоряет процесс получения микрофлоры курунговой закваски на 24-48 часов. Исходя из вышесказанного, был подобран оптимальный температурный интервал культивирования, находящийся в пределах (30±2)°C.

35 В дальнейших исследованиях изучали возможность использования способа получения курунговой закваски для приготовления кумысной закваски. Исследования показали, что кумысная закваска, полученная с использованием курунговой микрофлоры, характеризовалась повышенной кислотностью и по органолептическим показателям отличалась от традиционной кумысной закваски.

В этой связи, для снижения кислотности необходимо было изменить характер взаимоотношений микроорганизмов в разработанной микробной ассоциации путем уменьшения количества термофильных лактобактерий, как наиболее сильных кислотообразователей, вводимых с кефирной грибковой закваской. Для исследования были выбраны следующие соотношения кефирной грибковой закваски и термофильных лактобактерий (болгарской и ацидофильной палочек) - 2:0,5:0,5 и 3:0,5:0,5. Культивирование проводили при (30±2)°C. В качестве контроля использовалось соотношение 1:0,5:0,5, используемое для производства курунговой закваски. Полученные результаты представлены на фиг.3 и 4.

Анализ данных, представленных на фиг.3 и 4, свидетельствует, что оптимальным является соотношение 3:0,5:0,5. Выбранное соотношение позволяет снизить высокую кислотообразующую способность закваски и создать благоприятные условия для протекания спиртового брожения (см. фиг.3).

Таким образом, наиболее предпочтительным соотношением кефирной грибковой закваски и термофильных лактобактерий (болгарской и ацидофильной палочек) для приготовления кумысной закваски является соотношение 3:0,5:0,5 соответственно,

поскольку оно способствует снижению количества термофильных лактобактерий по сравнению с курунговой закваской и интенсифицирует развитие дрожжей (см. фиг.4).

Далее были проведены исследования по разработке жидких бактериальных концентратов "Кумысин" и "Курунгин" на основе полученных симбиотических заквасок.

5 Были подобраны оптимальный компонентный состав питательной среды и условия получения концентрата симбиотической закваски.

При приготовлении питательной среды была использована молочная сыворотка, которая является наиболее сбалансированным и доступным источником углеродного и азотистого питания, для развития молочнокислых бактерий и дрожжей.

10 Известно, что дрожжи обладают менее совершенной системой протеолитических ферментов по сравнению с молочнокислыми бактериями и не способны усваивать пептиды сыворотки. Поэтому в качестве источника азотистого питания в питательную среду вводят картофельный отвар. Картофель содержит белки и аминокислоты, выполняющие различные функции: каталитические, структурные, регуляторные и др.

15 При введении картофельного отвара в среду, содержащую молочную кислоту, происходит гидролиз крахмала. Вначале имеет место ослабление и разрыв ассоциативных связей между макромолекулами амилозы и амилопектина, конечным продуктом гидролиза является глюкоза - важнейший источник углеводного питания дрожжей.

20 Результаты исследований динамики дрожжевой микрофлоры, при внесении различных доз картофельного отвара в биомассу, представлены в таблице 2.

Доза картофельного отвара, %	Количество дрожжей, сбраживающих лактозу, в 1 см <sup>3</sup> , КОЕ			Количество дрожжей, не сбраживающих лактозу, в 1 см <sup>3</sup> , КОЕ		
	0 ч	12 ч	24 ч	0 ч	12 ч	24 ч
контроль	4.10 <sup>3</sup>	8.10 <sup>5</sup>	4.10 <sup>8</sup>	2.10 <sup>4</sup>	3.10 <sup>5</sup>	2.10 <sup>8</sup>
5	4.10 <sup>3</sup>	7.10 <sup>6</sup>	8.10 <sup>8</sup>	2.10 <sup>4</sup>	9.10 <sup>5</sup>	7.10 <sup>8</sup>
10	4.10 <sup>3</sup>	6.10 <sup>7</sup>	4.10 <sup>9</sup>	2.10 <sup>4</sup>	8.10 <sup>6</sup>	3.10 <sup>9</sup>
15	4.10 <sup>3</sup>	9.10 <sup>7</sup>	6.10 <sup>9</sup>	2.10 <sup>4</sup>	2.10 <sup>7</sup>	2.10 <sup>10</sup>
20	4.10 <sup>3</sup>	1.10 <sup>8</sup>	2.10 <sup>10</sup>	2.10 <sup>4</sup>	6.10 <sup>7</sup>	8.10 <sup>10</sup>

30 Данные исследований показали, что картофельный отвар обладает значительным стимулирующим эффектом на рост дрожжей в биомассе. Максимальное содержание наблюдалось при добавлении 20% отвара - 8.10<sup>10</sup> дрожжей, не сбраживающих лактозу, и 9.10<sup>9</sup> дрожжей, сбраживающих лактозу. В питательной среде без добавления

35 картофельного отвара (контроль) дрожжи, не сбраживающие лактозу, содержались в количестве 2.10<sup>8</sup>, сбраживающие лактозу 4.10<sup>8</sup> КОЕ в 1 см<sup>3</sup>.

При подборе стимулирующих факторов для развития дрожжей необходимо избежать подавления дрожжами молочнокислых микроорганизмов, поэтому повышение количества отвара до 15-20% принято нецелесообразным. Оптимальной, в данных условиях, является

40 доза отвара до 10%, способствующая увеличению дрожжевой микрофлоры на порядок. При введении в среду 7-10% отвара интенсифицируется процесс накопления биомассы, результаты представлены на фиг.5.

Оптическая плотность питательной среды при внесении 7-10% отвара увеличивается до 0,28 ед., по сравнению с образцом без добавления картофельного отвара. Был определен

45 также выход биомассы, который составляет при добавлении 7-10% картофельного отвара до 16,6 г/л.

Таким образом, оптимальным количеством картофельного отвара, является 7-10%. Это обеспечивает высокий выход биомассы симбиотической закваски и способствует

повышению количества дрожжей.

50 Таким образом, именно отличительные признаки заявленного изобретения - условия культивирования симбиотической закваски и добавление картофельного отвара - обеспечивают достижение технического результата, заключающегося в повышении кислотообразующей и спиртообразующей способности и увеличении количества дрожжей в

микрофлоре бактериальных концентратов, применяемых в качестве биологически активных добавок к пище.

Предлагаемый способ осуществляют следующим образом.

В осветленную творожную сыворотку вносят картофельный отвар в количестве 7-10%, 1 г/л натрия лимоннокислого трехзамещенного, 1 г/л калия фосфорнокислого однозамещенного, 0,1 г/л магния сернокислого, 0,5 г/л сахарозы, 0,1 г/л аскорбиновой кислоты и стерилизуют при температуре  $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение (20-30) минут, затем охлаждают до температуры  $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ , вносят 5-7% инокулята симбиотической закваски, полученной методом культивирования кефирной грибковой закваски и термофильных лактобактерий (болгарской и ацидофильной палочек) на обезжиренном молоке при температуре  $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ , в течение 2-3 суток, и устанавливают pH среды в пределах 6,0-6,5.

Накопление биомассы симбиотической закваски производят в условиях периодического культивирования при двукратной нейтрализации среды через 12 и 24 часа культивирования и перемешивании в течение (10-15) мин через каждые 6 часов. Продолжительность культивирования (18-24) часа, температура  $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ .

По окончании процесса культивирования сливают верхний слой отделившейся сыворотки, оставшуюся биомассу охлаждают до температуры  $6^\circ\text{C}$  и разливают дозаторами в стерильные флаконы по  $(10 \pm 0,2)$  см<sup>3</sup>. Флаконы укупоривают резиновыми пробками и закатывают алюминиевыми колпачками. Жидкий бактериальный концентрат хранят при температуре  $(6-8)^\circ\text{C}$ , срок хранения при этой температуре составляет три месяца.

Нами была изучена антибиотическая активность микрофлоры закваски методом предельных разведений на гидролизованном молоке с использованием в качестве тест-культуры *M. tuberculosis*, взятой с посевов на среде Левенштейна-Йенсена мокроты больных активной формой туберкулеза. Результаты исследований представлены в таблице 3.

Вид засеваемой микрофлоры	Контроль: (тест-культура)	Разведение							
		1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
"Курунгин"	Обильный рост	Полное отсутствие роста	Следы	Следы	Следы	Следы	Следы	Наличие роста тест-культуры	Наличие роста тест-культуры
"Кумысин"	Обильный рост	Полное отсутствие роста	Следы	Следы	Следы	Следы	Следы	Наличие роста тест-культуры	Наличие роста тест-культуры

В качестве контроля использовался посев исходной тест-культуры на гидролизованном молоке без добавления бактериального концентрата. После выдержки посевов тест-культуры совместно с разведениями бактериального концентрата на гидролизованном молоке в течение семи суток микрофлора пересевалась на среду для количественного учета микобактерий туберкулеза - Левенштейна-Йенсена. При разведении бактериального концентрата в соотношении 1:1 наблюдалось бактерицидное действие на микобактерии туберкулеза, т.е. полное отсутствие роста, это подтверждалось также при микроскопировании препарата с окрашиванием по Цилю-Нильсену. До разведения 1:32, включительно, наблюдается бактериостатическое действие, далее значительного подавления роста не наблюдается, хотя рост не столь обильный, как в пересеве исходной тест-культуры, без добавления закваски.

Данный метод позволил установить довольно высокие показатели антибиотической активности микрофлоры бактериальных концентратов: бактерицидное действие на *M. tuberculosis* в разведении 1:1 и бактериостатическое, до разведения 1:32 включительно.

Таким образом, разработанный по заявляемому способу жидкий бактериальный концентрат отличается многокомпонентным составом микрофлоры и высокой антибиотической активностью, которые достигаются благодаря оптимальным физико-химическим параметрам культивирования, дающим стабильные биохимические и микробиологические показатели. Это позволило использовать полученные по заявляемому способу концентраты "Кумысин" и "Курунгин" в качестве биологически активных добавок к



пище.

Устойчивостью существующих форм заболевания туберкулезом к химиопрепаратам обуславливает поиск новых методов воздействия на возбудителя заболевания, одним из способов является применение в комплексном лечении биологически активных добавок к

5

пище "Кумысин" и "Курунгин".  
 Были проведены клинические исследования жидкого бактериального концентрата в качестве биологически активной добавки к пище при лечении туберкулеза на базе противотуберкулезного диспансера, которые показали широкие перспективы использования препарата-симбиотика в качестве антистрессорного и

10

иммуномодулирующего средства, применяемого одновременно с туберкулостатиками.  
 В таблице 4 представлены качественные показатели жидких бактериальных концентратов, которые могут применяться в качестве биологически активных добавок к

пище.

15

Таблица 4. Качественные показатели жидкого бактериального концентрата		
Показатели	Норма	
	Бактериальный концентрат "Курунгин"	Бактериальный концентрат "Кумысин"
Внешний вид	Мутная жидкость с характерными хлопьями беловатого или бледно-желтого цвета. Допускается небольшой отстой сыворотки	
Активная кислотность, pH	6,0-6,2	6,2-6,5
Количество микроорганизмов на конец срока годности, в 1 см <sup>3</sup> , КОЕ, не менее		
Термофильные лактобактерии	10 <sup>10</sup>	10 <sup>9</sup>
Мезофильные лактобактерии	10 <sup>9</sup>	10 <sup>10</sup>
Дрожжи, сбраживающие лактозу	10 <sup>9</sup>	10 <sup>9</sup>
Дрожжи, не сбраживающие лактозу	10 <sup>9</sup>	10 <sup>9</sup>
Антибиотическая активность (тест-культура M.tuberculosis), до разведения	1:32	1:32
Клетки в микроскопическом препарате	Тонкие палочки, много мелких круглых и овальных клеток дрожжей, одиночных или собранных в гроздь	
БГКП (колиформы), в 3 г	Не допускаются	
Патогенные микроорганизмы (в т.ч. сальмонеллы), в 10 г	Не допускаются	
Плесени, КОЕ/г, не более чем	5	
Содержание витамина С, мг/100 г	1,4	1,5
Содержание витамина В <sub>12</sub> , мг/100 г	142	136

20

25

30

Пример 1. Получение жидкого бактериального концентрата "Курунгин" для

35

использования в качестве биологически активной добавки к пище.  
 В осветленную творожную сыворотку вносят картофельный отвар в количестве 10%, 1 г/л натрия лимоннокислого трехзамещенного, 1 г/л калия фосфорнокислого однозамещенного, 0,1 г/л магния сернокислого, 0,5 г/л сахарозы, 0,1 г/л аскорбиновой кислоты и стерилизуют при температуре 121°C в течение 30 минут, затем охлаждают до

40

температуры 30°C, вносят 5% курунговой закваски (соотношение кефирной закваски и культур ацидофильной и болгарской палочек 1:0,5:0,5, соответственно, время культивирования 3 суток при температуре 30°C) и устанавливают pH среды в пределах 6,0.  
 Накопление биомассы производят в условиях периодического культивирования при двукратной нейтрализации среды через 12 и 24 часа культивирования и перемешивании в

45

течение 15 мин через каждые 6 часов. Продолжительность культивирования 24 часа, температура 30°C.  
 После окончания процесса культивирования сливают верхний слой отделившейся сыворотки, оставшуюся биомассу охлаждают до температуры 6°C и разливают дозаторами в стерильные флаконы по 10 см<sup>3</sup>. Флаконы укупоривают резиновыми пробками и

50

закатывают алюминиевыми колпачками. Срок хранения жидкого бактериального концентрата, при температуре 6°C, составляет три месяца.  
 Пример 2. Получение жидкого бактериального концентрата "Кумысин" для

использования в качестве биологически активной добавки к пище.

В осветленную творожную сыворотку вносят картофельный отвар в количестве 7%, 1 г/л натрия лимоннокислого трехзамещенного, 1 г/л калия фосфорнокислого однозамещенного, 0,1 г/л магния сернокислого, 0,5 г/л сахарозы, 0,1 г/л аскорбиновой кислоты и стерилизуют при температуре 121°C в течение 30 минут, затем охлаждают до температуры 32°C, вносят 5% кумысной закваски (соотношение кефирной закваски и культур ацидофильной и болгарской палочек 3:0,5:0,5, соответственно, время культивирования 3 суток при температуре 32°C) и устанавливают pH среды в пределах 6,5.

Накопление биомассы производят в условиях периодического культивирования при двукратной нейтрализации среды через 12 и 24 часа культивирования и перемешивании в течение 15 мин через каждые 6 часов. Продолжительность культивирования 24 часа, температура 30°C.

После окончания процесса культивирования сливают верхний слой отделившейся сыворотки, оставшуюся биомассу охлаждают до температуры 6°C и разливают дозаторами в стерильные флаконы по 10 см<sup>3</sup>. Флаконы укупоривают резиновыми пробками и закатывают алюминиевыми колпачками. Срок хранения жидкого бактериального концентрата, при температуре 6°C, составляет три месяца.

Пример 3. Получение жидкого бактериального концентрата «Курунгин» для использования в качестве биологически активной добавки к пище.

В осветленную творожную сыворотку вносят картофельный отвар в количестве 10%, 1 г/л натрия лимоннокислого трехзамещенного, 1 г/л калия фосфорнокислого однозамещенного, 0,1 г/л магния сернокислого, 0,5 г/л сахарозы, 0,1 г/л аскорбиновой кислоты и стерилизуют при температуре 121°C в течение 30 минут, затем охлаждают до температуры 28°C, вносят 7% курунговой закваски (соотношение кефирной закваски и культур ацидофильной и болгарской палочек 1:0,5:0,5, соответственно, время культивирования 3 суток при температуре 28°C) и устанавливают pH среды в пределах 6,0.

Накопление биомассы производят в условиях периодического культивирования при двукратной нейтрализации среды через 6 и 18 часов культивирования и перемешивании в течение 15 мин через каждые 6 часов. Продолжительность культивирования 18 часов, температура 28°C.

После окончания процесса культивирования сливают верхний слой отделившейся сыворотки, оставшуюся биомассу охлаждают до температуры 6°C и разливают дозаторами в стерильные флаконы по 10 см<sup>3</sup>. Флаконы укупоривают резиновыми пробками и закатывают алюминиевыми колпачками. Срок хранения жидкого бактериального концентрата, при температуре 6°C, составляет три месяца.

Пример 4. Получение жидкого бактериального концентрата «Кумысин» для использования в качестве биологически активной добавки к пище.

В осветленную творожную сыворотку вносят картофельный отвар в количестве 7%, 1 г/л натрия лимоннокислого трехзамещенного, 1 г/л калия фосфорнокислого однозамещенного, 0,1 г/л магния сернокислого, 0,5 г/л сахарозы, 0,1 г/л аскорбиновой кислоты и стерилизуют при температуре 121°C в течение 30 минут, затем охлаждают до температуры 30°C, вносят 7% кумысной закваски (соотношение кефирной закваски и культур ацидофильной и болгарской палочек 3:0,5:0,5, соответственно, время культивирования 2 суток при температуре 30°C) и устанавливают pH среды в пределах 6,5.

Накопление биомассы производят в условиях периодического культивирования при двукратной нейтрализации среды через 6 и 18 часов культивирования и перемешивании в течение 15 мин через каждые 6 часов. Продолжительность культивирования 18 часов, температура 30°C.

После окончания процесса культивирования сливают верхний слой отделившейся сыворотки, оставшуюся биомассу охлаждают до температуры 6°C и разливают дозаторами в стерильные флаконы по 10 см<sup>3</sup>. Флаконы укупоривают резиновыми пробками и закатывают алюминиевыми колпачками. Срок хранения жидкого бактериального

концентрата, при температуре 6°C, составляет три месяца.

Пример 5. Применение бактериального концентрата "Курунгин" в качестве биологически активной добавки к пище.

5 Применение полученного по примеру 1 бактериального концентрата "Курунгин" в качестве биологически активной добавки к пище производится для восстановления нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, снижения тяжести побочных реакций на противотуберкулезные препараты, частоты токсикоаллергических реакций на микобактерии туберкулеза и в качестве иммуномодулирующего средства.

10 Пример 6. Применение бактериального концентрата "Кумысин" в качестве биологически активной добавки к пище.

Применение полученного по примеру 2 бактериального концентрата "Кумысин" в качестве биологически активной добавки к пище производится для восстановления нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, снижения тяжести побочных реакций на противотуберкулезные препараты, частоты токсикоаллергических реакций на микобактерии туберкулеза и в качестве иммуномодулирующего средства.

Пример 7. Применение бактериального концентрата "Курунгин" в качестве биологически активной добавки к пище.

20 Жидкий бактериальный концентрат "Курунгин", полученный по примеру 3, используют как самостоятельную биологически активную добавку в рационе питания для детей старше пяти лет 3 раза в день по одной чайной ложке за 30 минут до или после приема пищи, для взрослых 3 раза в день по одной столовой ложке за 30 минут до или после приема пищи.

Пример 8. Применение бактериального концентрата "Кумысин" в качестве биологически активной добавки к пище.

25 Жидкий бактериальный концентрат "Кумысин", полученный по примеру 4, используют как самостоятельную биологически активную добавку в рационе питания для детей старше пяти лет 3 раза в день по одной чайной ложке за 30 минут до или после приема пищи, для взрослых 3 раза в день по одной столовой ложке за 30 минут до или после приема пищи.

30

#### Формула изобретения

1. Способ получения жидкого бактериального концентрата, предусматривающий приготовление питательной среды на основе молочной сыворотки, внесение инокулята, культивирование, раскисление питательной среды, отделение полученной биомассы, отличающийся тем, что в процессе приготовления питательной среды в молочную сыворотку вносят картофельный отвар в количестве 7-10%, а в качестве инокулята используют закваску, полученную методом культивирования кефирной грибковой закваски и термофильных лактобактерий (болгарской и ацидофильной палочек) при температуре  $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$  в течение 2-3 сут.

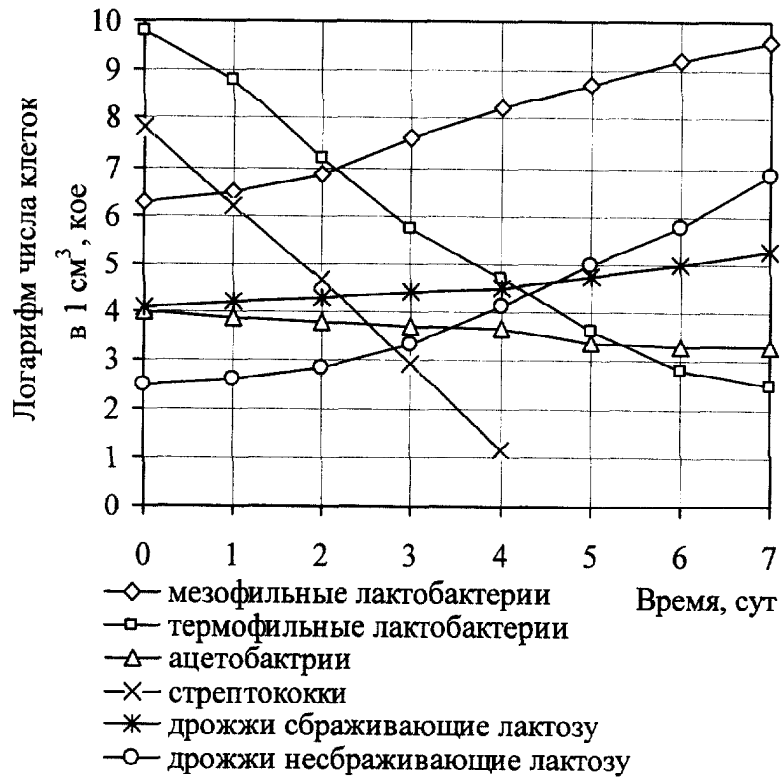
40 2. Способ по п.1, отличающийся тем, что кефирную грибковую закваску и термофильные лактобактерии (болгарскую и ацидофильную палочки) берут в соотношении 1:0,5:0,5 соответственно.

45 3. Способ по п.1, отличающийся тем, что кефирную грибковую закваску и термофильные лактобактерии (болгарскую и ацидофильную палочки) берут в соотношении 3:0,5:0,5 соответственно.

4. Применение жидкого бактериального концентрата, полученного способом по пп.1-3, в качестве биологически активной добавки к пище.

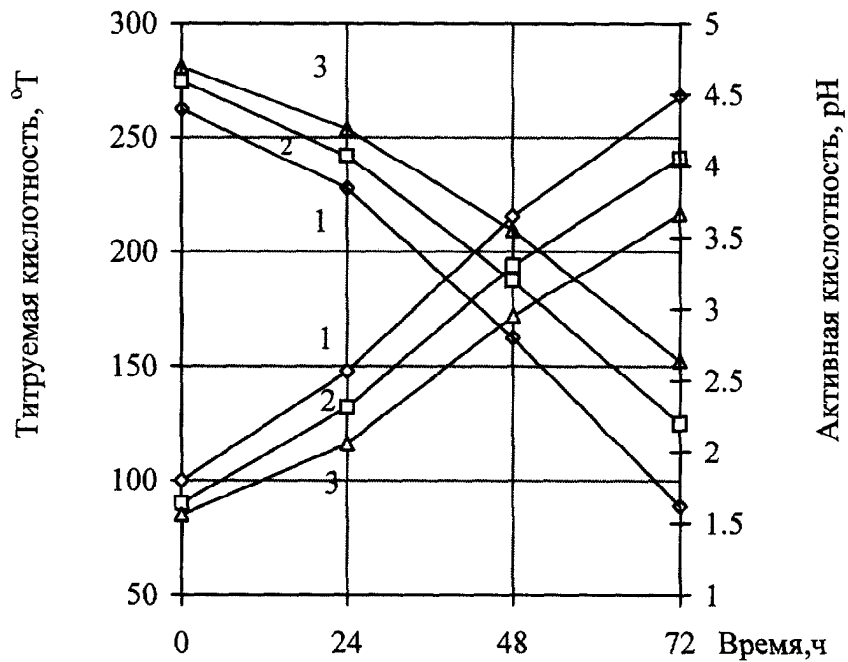
50

Динамика количественного соотношения микроорганизмов в процессе культивирования при 20-22<sup>0</sup>С



Фиг.2

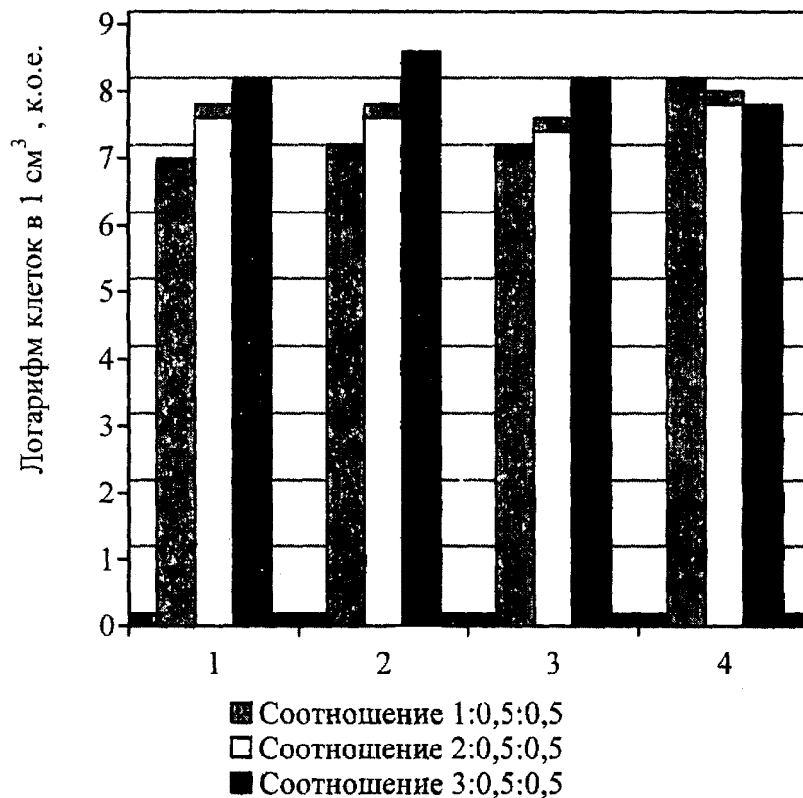
Динамика активной и титруемой кислотности в процессе культивирования кефирной грибковой закваски и термофильных лактобактерий



- 1 - соотношение 1:0,5:0,5;
- 2 - соотношение 2:0,5:0,5;
- 3 - соотношение 3:0,5:0,5.

Фиг. 3

Состав микрофлоры симбиотических заквасок  
после проведения автоселекции



- 1- количество дрожжей, сбраживающих лактозу;
- 2- количество дрожжей, не сбраживающих лактозу;
- 3- количество мезофильных лактобактерий;
- 4- количество термофильных лактобактерий

Фиг. 4

Динамика изменения оптической плотности при внесении  
картофельного отвара



Фиг. 5