



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2004137758/13, 23.12.2004

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
23.12.2004

(43) Дата публикации заявки: 10.06.2006

(45) Опубликовано: 27.11.2006 Бюл. № 33

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: SU 1082371 A, 30.03.1984. RU 2059380  
C1, 10.05.1996. RU 2213460 C2, 10.10.2003. SU  
1147326 A, 30.03.1985.Адрес для переписки:  
670013, г.Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40в,  
стр.1, ВСГТУ, ОИС

(72) Автор(ы):

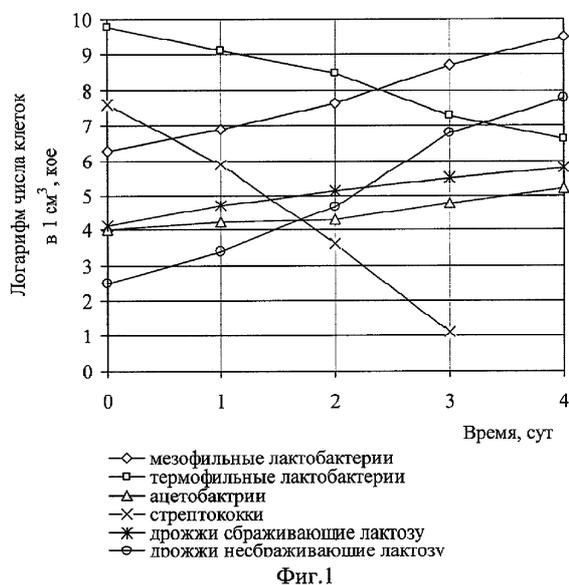
Хамагаева Ирина Сергеевна (RU),  
Занданова Туяна Нимбуевна (RU),  
Крекер Людмила Геннадьевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Государственное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
Восточно-Сибирский государственный  
технологический университет (RU),  
Хамагаева Ирина Сергеевна (RU)(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ СИМБИОТИЧЕСКОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО КОНЦЕНТРАТА ДЛЯ  
ПРОИЗВОДСТВА ПРОДУКТОВ ГЕТЕРОФЕРМЕНТАТИВНОГО БРОЖЕНИЯ

(57) Реферат:

Изобретение относится к молочной промышленности и биотехнологии и может быть использовано для приготовления продуктов гетероферментативного брожения - кумыса и курунги. 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 палочки) при температуре  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  в течение 2-3 суток. Культивирование, раскисление питательной среды. Отделение полученной биомассы и смешивание с защитной средой. Последующий розлив и замораживание. Изобретение позволяет повысить кислотообразующую и спиртообразующую способность симбиотического концентрата и увеличить количество дрожжей, 2 з.п. ф-лы, 5 табл., 5 ил.



Фиг.1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,  
PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2004137758/13, 23.12.2004**(24) Effective date for property rights: **23.12.2004**(43) Application published: **10.06.2006**(45) Date of publication: **27.11.2006 Bull. 33**

Mail address:

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

(72) Inventor(s):

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

(73) Proprietor(s):

**Gosudarstvennoe obrazovatel'noe uchrezhdenie  
vysshego professional'nogo obrazovanija  
Vostochno-Sibirskij gosudarstvennyj  
tehnologičeskij universitet (RU),  
Khamagaeva Irina Sergeevna (RU)**

(54) **METHOD FOR PRODUCING OF SYMBIOTIC BACTERIAL CONCENTRATE FOR OBTAINING OF HETEROFERMENTATIVE FERMENTATION PRODUCTS**

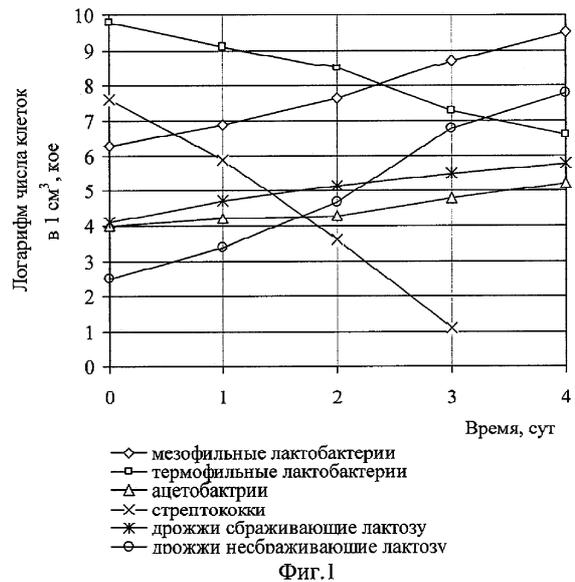
(57) Abstract:

FIELD: milk industry and biotechnology, in particular, preparing of heterofermentative fermentation products such as kumis.

SUBSTANCE: method involves preparing nutrient medium based on milk whey and potato decoction; introducing symbiotic starter produced by cultivation of kefir fungous starter and thermophilic lactic acid bacteria (Massol's bacillus and lactobacillus acidophilus) at temperature of  $30 \pm 2$  C during 2-3 days; providing cultivation and deoxidation of nutrient medium; separating resultant biomass and mixing with protective medium; bottling and freezing.

EFFECT: increased acid forming and alcohol forming capacity of symbiotic concentrate and increased quantity of yeast.

7 cl, 5 dwg, 4 ex



Изобретение относится к биотехнологии и может быть использовано для приготовления кисломолочных продуктов гетероферментативного брожения - кумыса и курунги, а также биологически активных добавок к пище.

Известен способ приготовления кисломолочного напитка типа "Курунга",  
5 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 А 23 С 9/12, Способ получения закваски для приготовления сброженного продукта типа "Курунга", опубл. 10.05.96, бюл. №13].

10 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  
15 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 продукт с  
20 характерными для курунги качественными показателями. Кроме этого, вышеуказанный способ не обеспечивает стойкости заквасок к длительному хранению.

Наиболее близким способом к заявляемому изобретению по совокупности признаков является способ приготовления концентрата симбиотической закваски,  
25 предусматривающий приготовление питательной среды на основе осветленной молочной сыворотки, внесение инокулята, культивирование, раскисление питательной среды, отделение полученной биомассы, смешивание с защитной средой, розлив и замораживание SU 1082371 А, А 23 С 9/12; С 12 N 1/20, 30.03.84 "Способ получения бактериального концентрата".

К причинам, препятствующим достижению указанного ниже технического результата при  
30 использовании вышеуказанного способа, принятого за прототип, относятся то, что в известном способе получения концентрата симбиотической закваски 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.

35 Таким образом, при производстве симбиотического бактериального концентрата для продуктов гетероферментативного брожения курунги и кумыса, основной задачей является подбор условий культивирования кефирной закваски для обеспечения оптимального соотношения микроорганизмов в симбиотической закваске и получения курунги и кумыса с характерными для них показателями.

40 Технический результат, обеспечивающий осуществление предлагаемого изобретения, заключается в повышении кислотообразующей и спиртообразующей способности симбиотического концентрата и увеличении количества дрожжей.

Указанный технический результат достигается тем, что в способе приготовления симбиотического бактериального концентрата для производства продуктов  
45 гетероферментативного брожения, предусматривающем приготовление питательной среды на основе осветленной молочной сыворотки и ростовых компонентов, внесение инокулята, культивирование, охлаждение, отделение полученной биомассы, смешивание с защитной средой, замораживание, согласно изобретению для активизации роста дрожжей в процессе приготовления питательной среды в молочную сыворотку вносят картофельный отвар в  
50 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  $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ , в течение 2-3 суток.

Кроме того, особенность способа заключается в том, что для производства курунги кефирную грибковую закваску и термофильные лактобактерии (болгарскую и ацидофильную палочки) берут в соотношении 1:0,5:0,5 соответственно.

Кроме того, особенность способа заключается в том, что для производства кумыса кефирную закваску и термофильные лактобактерии берут в соотношении 3:0,5:0,5 соответственно.

Отличительными признаками заявляемого способа 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%.

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. Многокомпонентность микрофлоры является основной проблемой, затрудняющей создание заквасок и промышленное производство курунги и кумыса.

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, популяцию микроорганизмов, идентичную консорциуму микроорганизмов естественной курунговой и кумысной заквасок.

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.

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 табл.1.

Показатели	Варианты соотношения кефирной грибковой закваски: L.bulgaricus: L.acidophilum		
	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, рН	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>

Из табл.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.

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.

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

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  $3 \cdot 10^9$  кое. в  $1 \text{ см}^3$ , дрожжи не сбраживающие лактозу  $8 \cdot 10^7$  кое в  $1 \text{ см}^3$ , термофильные лактобактерии  $7 \cdot 10^5$  кое в  $1 \text{ см}^3$  и дрожжи, сбраживающие лактозу -  $4 \cdot 10^5$  кое в  $1 \text{ см}^3$ .

Полученные данные свидетельствуют о том, что температура культивирования 30°C стимулирует активное размножение дрожжевой микрофлоры и ускоряет процесс получения микрофлоры курунговой закваски на 24-47 часов. Исходя из вышесказанного был подобран оптимальный температурный интервал культивирования, находящийся в пределах  $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ .

В дальнейших исследованиях изучали возможность использования полученной курунговой закваски для приготовления кумыса из коровьего молока. Исследования показали, что кумыс, полученный с использованием курунговой закваски, характеризовался повышенной кислотностью и по органолептическим показателям отличался от традиционного кумыса.

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  $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ . В качестве контроля использовалось соотношение 1:0,5:0,5, используемое для производства курунги. 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 она способствует снижению количества термофильных лактобактерий по сравнению с курунговой закваской и интенсифицирует развитие дрожжей (см. фиг.4).

На основании полученных данных была разработана технология приготовления симбиотических заквасок для производства кумыса и курунги.

Процесс приготовления симбиотической закваски занимает достаточно длительный период и затрудняет процесс приготовления продукта в условиях производства. В связи с этим нами были проведены исследования по разработке бактериального концентрата симбиотической закваски.

5 Были подобраны оптимальный 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, производит 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.

Таблица 2 Динамика дрожжевой микрофлоры при добавлении картофельного отвара						
Доза картофельного отвара, %	Количество дрожжей, сбраживающих лактозу в 1 см <sup>3</sup> , к.о.е.			Количество дрожжей, не сбраживающих лактозу в 1 см <sup>3</sup> , кое		
	0 ч.	12 ч.	24 ч.	0 ч.	12 ч.	24 ч.
1	2	3	4	5	6	7
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>

25 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 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.

35 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 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.

40 Оптическая плотность питательной среды при внесении 7-10% отвара увеличивается до 0,28 ед., по сравнению с образцом без добавления картофельного отвара. Был определен также выход биомассы, который составляет при добавлении 7-10% картофельного отвара до 16,6 г/л.

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

50 Была также подобрана защитная среда для замораживания биомассы и установлен срок хранения бактериального концентрата, который составляет 6 месяцев. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 Оценка качества бактериального концентрата в процессе хранения					
Срок хранения, сут.	Количество микроорганизмов, в см <sup>3</sup> кое				
	Термофильные лактобактерии	Мезофильные лактобактерии	Дрожжи, сбраживающие лактозу	Дрожжи, не сбраживающие лактозу	Уксуснокислые бактерии
1	2	3	4	5	6
0	9,5·10 <sup>8</sup>	2,8·10 <sup>9</sup>	7,5·10 <sup>9</sup>	9,5·10 <sup>9</sup>	3,6·10 <sup>5</sup>
30	9,5·10 <sup>8</sup>	2,5·10 <sup>9</sup>	7,3·10 <sup>9</sup>	9,3·10 <sup>9</sup>	3,6·10 <sup>5</sup>
60	9,5·10 <sup>8</sup>	1,5·10 <sup>9</sup>	6,5·10 <sup>9</sup>	9,3·10 <sup>9</sup>	3,8·10 <sup>5</sup>
90	9,2·10 <sup>8</sup>	7,5·10 <sup>8</sup>	6,25·10 <sup>9</sup>	9,1·10 <sup>9</sup>	3,9·10 <sup>5</sup>
120	9,0·10 <sup>8</sup>	7,3·10 <sup>8</sup>	6,0·10 <sup>9</sup>	9,2·10 <sup>9</sup>	4,0·10 <sup>5</sup>
150	8,3·10 <sup>8</sup>	6,2·10 <sup>8</sup>	5,85·10 <sup>9</sup>	9,4·10 <sup>9</sup>	4,0·10 <sup>5</sup>
180	7,8·10 <sup>8</sup>	5,8·10 <sup>8</sup>	4,5·10 <sup>9</sup>	9,6·10 <sup>9</sup>	4,4·10 <sup>5</sup>
210	5,0·10 <sup>8</sup>	4,2·10 <sup>8</sup>	2,3·10 <sup>9</sup>	9,8·10 <sup>9</sup>	5,3·10 <sup>5</sup>

5 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 закваски и увеличении количества дрожжей.

10 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±1)°С в течение (20-30) минут, затем охлаждают до температуры (30±2)°С, вносят 5-7% инокулята симбиотической закваски, 15 полученной методом культивирования кефирной грибковой закваски и термофильных лактобактерий (болгарской и ацидофильной палочек) на обезжиренном молоке при 20 температуре (30±2)°С в течение 2-3 суток, и устанавливают рН среды в пределах 6,0-6,5.

25 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 30 культивирования (24±2) часа, температура (30±1)°С.

По окончании процесса культивирования сливают верхний слой отделившейся сыворотки, оставшуюся биомассу охлаждают до температуры (6±3)°С и центрифугируют при частоте оборотов 3500 об/с, в течение 15 минут. Суспензию клеток отделяют от 35 культуральной жидкости и смешивают с защитной средой в соотношении 1:1, содержащей 100 г/л сахарозы и 20 г/л натрия лимоннокислого. Полученную биомассу разливают дозаторами в стерильные флаконы по (2±0,15) см<sup>3</sup>. Флаконы укупоривают резиновыми пробками и закрывают алюминиевыми колпачками. Бактериальный концентрат замораживают при температуре (-18)°С, срок хранения при этой температуре составляет 40 шесть месяцев.

Качественные показатели бактериального концентрата представлены в таблице 4.

Таблица 4 Качественные показатели бактериального концентрата		
Показатели	Норма	
	Бактериальный концентрат дл приготавлени курунги	Бактериальный концентрат дл приготавлени кумыса
Внешний вид	Мутна жидкость с характерными хлопьями беловатого или бледно-желтого цвета. Допускается небольшой отстой сыворотки	
1	2	3
Активна кислотность, рН	6,0-6,2	6,2-6,5
Количество микроорганизмов на конец срока годности, в 1 см <sup>3</sup>		
Термофильные лактобактерии	10 <sup>9</sup>	10 <sup>8</sup>
Мезофильные лактобактерии	10 <sup>8</sup>	10 <sup>9</sup>

Дрожжи, сбраживающие лактозу	10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>
Дрожжи, не сбраживающие лактозу	10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>
Клетки в микроскопическом препарате	Тонкие палочки, много мелких круглых и овальных клеток дрожжей, одиночных или собранных в гроздь	
БГКП (колиформы), в 3 г	Не допускаютс	
Патогенные микроорганизмы (в т.ч. сальмонеллы), в 10 г	Не допускаютс	
Плесени, кое/г, не более чем	5	

Бактериальный концентрат может выпускаться также в жидком виде для использования в качестве биологически активной добавки к пище. Были проведены клинические исследования жидкого бактериального концентрата в качестве биологически активной добавки к пище при лечении и профилактике туберкулеза, которые показали широкие перспективы использования препарата-симбиотика в качестве антистрессорного, иммуномодулирующего средства, применяемого одновременно с туберкулостатиками.

В таблице 5 представлены качественные показатели жидкого бактериального концентрата, который может применяться в качестве биологически активной добавки к пище.

Показатели	Норма	
	Бактериальный концентрат "Курунгин"	Бактериальный концентрат "Кумысин"
Внешний вид	Мутна жидкость с характерными хлопьями беловатого или бледно-желтого цвета. Допускается небольшой отстой сыворотки	
1	2	3
Активна 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	

1	2	3
БГКП (колиформы), в 3 г	Не допускаютс	
Патогенные микроорганизмы (в т.ч. сальмонеллы), в 10 г	Не допускаютс	
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

Пример 1.

Получение симбиотического бактериального концентрата для приготовления курунги.

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 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 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 центрифугируют при частоте оборотов 3500 об/с, в течение 15 минут. Суспензию клеток отделяют от культуральной жидкости и смешивают с защитной средой в соотношении 1:1, содержащей 100 г/л сахарозы и 20 г/л натрия лимоннокислого. Суспензию разливают дозаторами в стерильные флаконы по 2 см<sup>3</sup>. Флаконы укупоривают резиновыми пробками и закатывают алюминиевыми колпачками. Бактериальный концентрат замораживают при температуре (-18)°C, срок хранения при этой температуре составляет шесть месяцев.

Пример 2.

Получение консервированного бактериального концентрата для приготовления кумыса. В осветленную творожную сыворотку вносят картофельный отвар в количестве 7%, 1 г/л натрия лимоннокислого трехзамещенного, 1 г/л калия фосфорно-кислого 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 5% кумысовой 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 центрифугируют при частоте оборотов 3500 об/с, в течение 15 минут. Суспензию клеток отделяют от культуральной жидкости и смешивают с защитной средой в соотношении 1:1, содержащей 100 г/л сахарозы и 20 г/л натрия лимоннокислого. Суспензию разливают дозаторами в стерильные флаконы по 2 см<sup>3</sup>. Флаконы укупоривают резиновыми пробками и закатывают алюминиевыми колпачками. Бактериальный концентрат замораживают при температуре (-18)°C, срок хранения при этой температуре составляет шесть месяцев.

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 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 28°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 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 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 5% курунговой закваски (соотношение кефирной закваски и культур ацидофильной и болгарской палочек 3:0,5:0,5, соответственно, время культивирования 3

5

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 12 и 24 часа культивирования и перемешивании в течение 15 мин через каждые 6 часов. Продолжительность культивирования 24 часа, температура 30°C.

10

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.

15

#### Формула изобретения

1. Способ получения симбиотического бактериального концентрата, предусматривающий приготовление питательной среды на основе молочной сыворотки, внесение инокулята, культивирование, раскисление питательной среды, отделение

20

полученной биомассы, смешивание с защитной средой, розлив, замораживание, 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

25

и термофильных лактобактерий (болгарской и ацидофильной палочки) при температуре 30±2°C в течение 2-3 суток.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что для производства курунги кефирную грибковую закваску и термофильные лактобактерии (болгарская и ацидофильная палочки) берут в соотношении 1:0,5:0,5 соответственно.

30

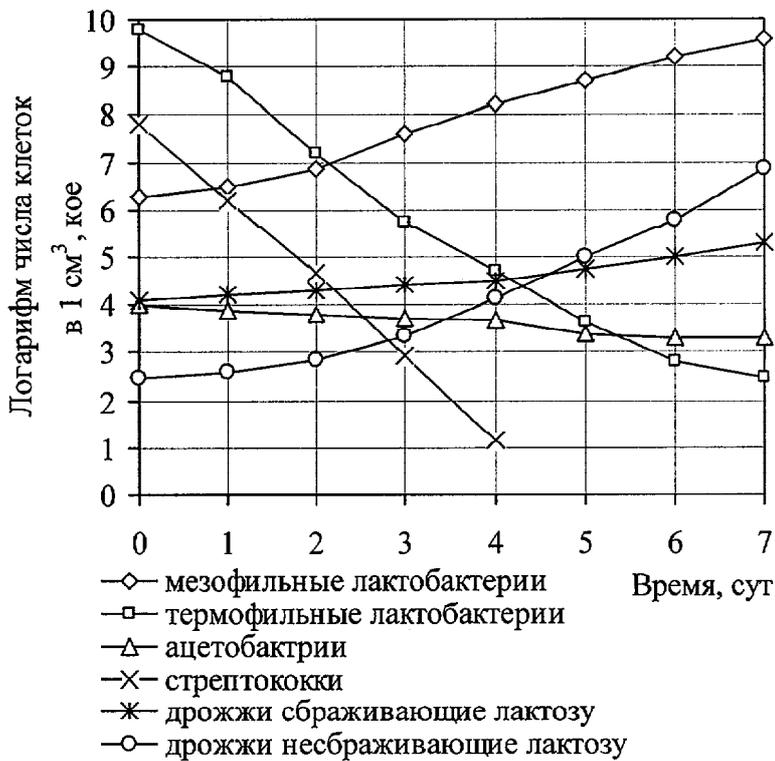
3. Способ по п.1, отличающийся тем, что для производства кумыса кефирную грибковую закваску и термофильные лактобактерии (болгарская и ацидофильная палочки) берут в соотношении 3:0,5:0,5 соответственно.

35

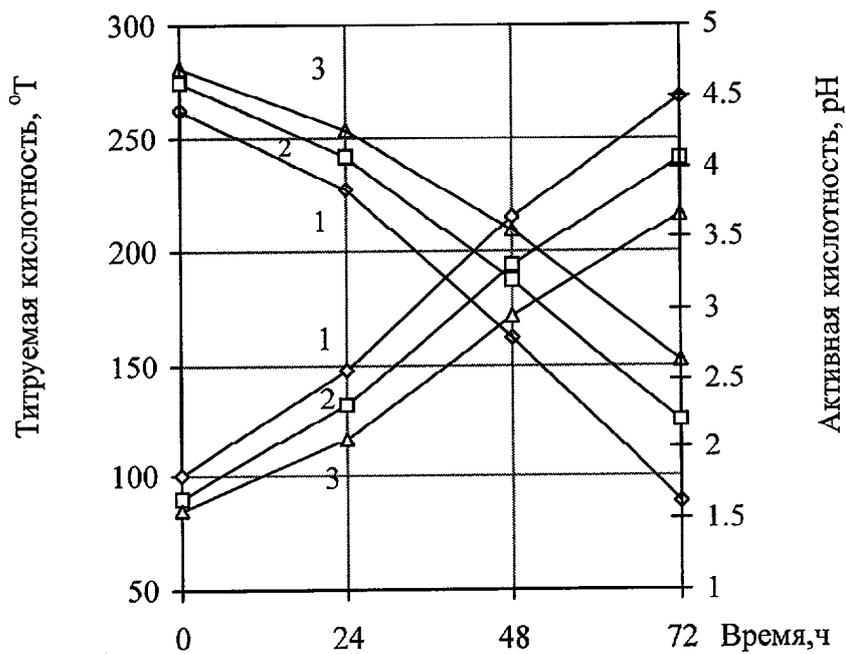
40

45

50

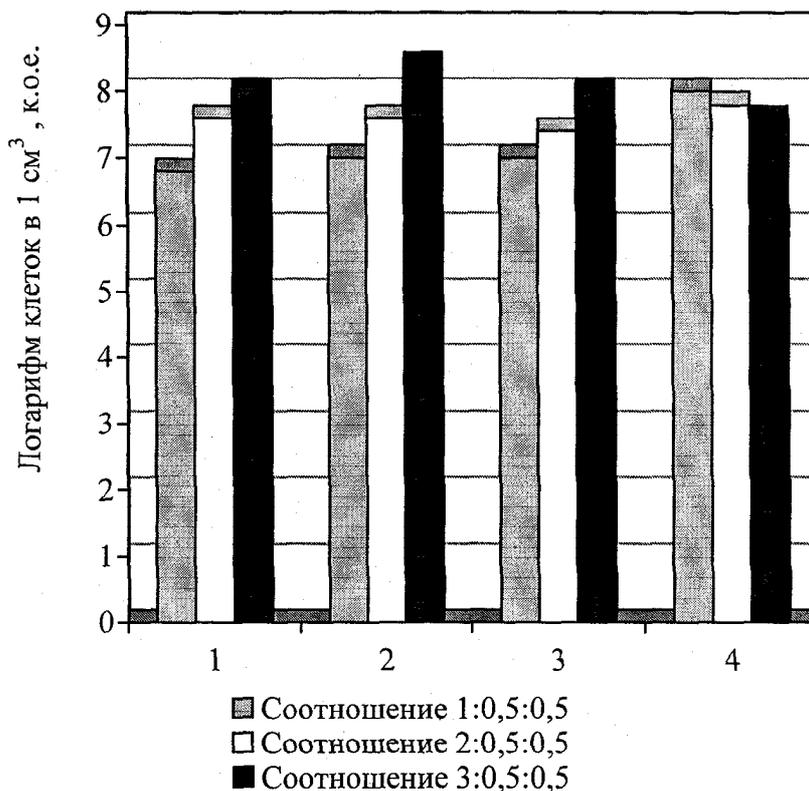


Фиг.2



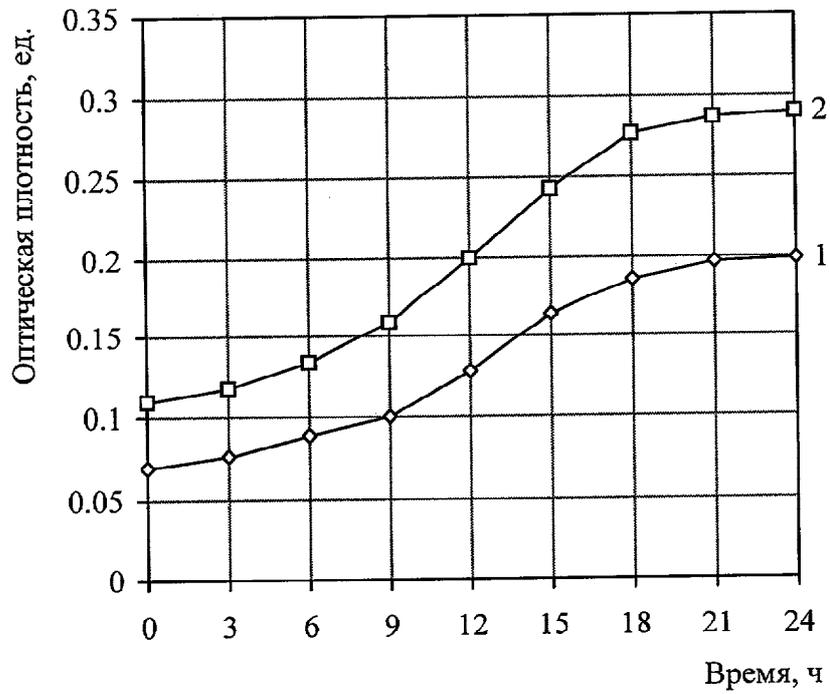
- 1 - соотношение 1:0,5:0,5;
- 2 - соотношение 2:0,5:0,5;
- 3 - соотношение 3:0,5:0,5.

Фиг. 3



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

Фиг. 4



- 1- контроль;  
2- 7-10% картофельного отвара

Фиг. 5