

(19) RU (11) 2 138 551 (13) С1

(51) МПК⁶ С 12 Н 1/20, А 23 С 9/12,

9/127//(С 12 Н 1/20, С 12 Р 1:01)



РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 96110987/13, 29.05.1996

(24) Дата начала действия патента: 29.05.1996

(46) Опубликовано: 27.09.1999

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: ТУ 10-02-02-63-88. Продукт кисломолочный "Тонус". ТУ 10-02-02-789-65-91. Закваски бактериальные, дрожжи, тест-культуры. - М., 1991, с.8. RU 94024396 A1, 20.04.96. RU 2020829 С1, 15.10.94.

Адрес для переписки:
113093, Москва, ул.Люсиновская 35,
Всероссийский научно-исследовательский
институт молочной промышленности

(71) Заявитель(и):

Всероссийский научно-исследовательский
институт молочной промышленности

(72) Автор(ы):

Семенихина В.Ф.,
Рожкова И.В.,
Харитонов В.Д.,
Богдановский В.В.,
Батурина Е.Н.,
Лужков Ю.М.,
Малышков В.И.,
Пивоваров В.И.,
Рыболов Е.Г.,
Усов В.В.,
Тарасов К.И.

(73) Патентообладатель(ли):

Всероссийский научно-исследовательский
институт молочной промышленности

(54) КОНСОРЦИУМ МИКРООРГАНИЗМОВ PROPIONIBACTERIUM SHERMANII, STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS, ACETOBACTER ACETI, ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ, И СПОСОБ ПРОИЗВОДСТВА КИСЛОМОЛОЧНОГО ПРОДУКТА

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии и может быть использовано в молочной промышленности при производстве кисломолочных продуктов. Консорциум штаммов микроорганизмов РТА состоит из Propionibacterium shermanii Э-1, Streptococcus thermophilus 17T и Acetobacter aceti 15-11 в соотношении: 10⁸-10⁹ : 10⁷-10⁸ : 10¹ - 10³ соответственно. При выработке кисломолочного продукта нормализованное, гомогенизированное и пастеризованное молоко охлаждают до 30 - 42°C и заквашивают симбиотической закваской, приготовленной на консорциуме микроорганизмов РТА, охлаждают сквашенный продукт до 20 - 25°C, расфасовывают

и доохлаждают до 4 - 8°C. Способ предусматривает внесение в охлажденный продукт при 20 - 25°C ароматизаторов или фруктовых наполнителей, причем в этом случае перед пастеризацией вносят подсластывающий агент. Продукт готовят на цельном или обезжиренном нормализованном молоке. Срок хранения продукта 14-21 день при 4 - 6°C. Полученный консорциум штаммов бактерий обладает умеренной энергией кислотообразования, высокой антибиотической активностью к патогенной микрофлоре и производит витамины группы. Продукт, выработанный на закваске, приготовленной на консорциуме РТА, сохраняет высокие органолептические и реологические свойства до 21 дня хранения. 2 с. и 4 з.п. ф-лы, 1 табл.

C 1
5 1
5 5
8 3
2 1
R U

R U
2 1 3 8 5 5 1
C 1

(19) RU (11) 2 138 551 (13) C1

(51) Int. Cl.⁶

C 12 N 1/20, A 23 C 9/12,

9/127//(C 12 N 1/20, C 12 R 1:01)



RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 96110987/13, 29.05.1996

(24) Effective date for property rights: 29.05.1996

(46) Date of publication: 27.09.1999

Mail address:

113093, Moskva, ul.Ljusinovskaja 35,
Vserossijskij nauchno-issledovatel'skij
institut molochnoj promyshlennosti

(71) Applicant(s):
Vserossijskij nauchno-issledovatel'skij
institut molochnoj promyshlennosti

(72) Inventor(s):
Semenikhina V.F.,
Rozhkova I.V.,
Kharitonov V.D.,
Bogdanovskij V.V.,
Baturina E.N.,
Luzhkov Ju.M.,
Malyshkov V.I.,
Pivovarov V.I.,
Rybalov E.G.,
Usov V.V.,
Tarasov K.I.

(73) Proprietor(s):
Vserossijskij nauchno-issledovatel'skij
institut molochnoj promyshlennosti

RU 2138551 C1

(54) CONSORTIUM OF MICROORGANISMS PROPIONIBACTERIUM SHERMANII,
STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS, ACETOBACTER ACETI USED FOR PREPARING
FERMENTED-MILK FOODSTUFFS AND METHOD OF PRODUCTION OF FERMENTED-MILK
PRODUCT

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology, microbiology, dairy industry. SUBSTANCE: consortium of microorganism strains consists of RTA Propionibacterium shermii E-1, Streptococcus thermophilus 17T and Acetobacter aceti 15-11 at the ratio: 10⁸-10⁹ : 10⁷-10⁸ : 10¹-10³, respectively. For production of fermented-milk product normalized, homogenized and pasteurized milk is cooled to 30-42 C and fermented with symbiotic ferment prepared on the base of microorganisms consortium RTA. Fermented product is cooled to 20-25 C, packaged and cooled additionally to 4-6 C. Method involves the addition of aromatic substances or fruit filling

agents to the cooled product at 20-25 C being in this case a sweetening agent is added before pasteurization. Product is prepared on the base of whole or defatted normalized milk. Storage time of product is 14-21 days at 4-6 C. Obtained consortium of bacterium strains show the moderate energy of acid production, high antibiotic activity with respect to pathogenic microflora and produces vitamins of B group. Product produced on the base of ferment prepared with consortium RTA retains high organoleptic and rheological properties for 21 days of storage. EFFECT: microorganism consortium indicated above, improved method of product preparing. 6 cl, 1 tbl, 4 ex

Изобретение относится к молочной промышленности, в частности к консорциумам для производства лечебно-профилактических препаратов и кисломолочных продуктов.

Известен консорциум молочнокислых культур *Lact.acidophilus* и *Str.thermophilus* ВКПМ В- 5936, используемый для приготовления кисломолочного продукта, предназначенного

- 5 для диетического питания детей и пожилых людей. Консорциум получен с учетом сочетаемости при совместном культивировании по продолжительности сквашивания, антибиотической активности, количеству клеток ацидофильных бактерий в совместной культуре с термофильным стрептококком. Для приготовления закваски 1 ч. смеси ацидофильных бактерий K12 и K10 соединяют с 4 ч. термофильного стрептококка 28M.
- 10 Полученную комбинированную закваску используют в количестве 1-5% для заквашивания молока при приготовлении производственной закваски. Продукт с использованием закваски, приготовленной из консорциума ВКПМ В-5936, готовят резервуарным способом (см. патент 1830079, кл. C 12 N 1/20, опубл. 1993 г.).

К недостаткам консорциума следует отнести то, что культуры, входящие в консорциум, не синтезируют витамины гр. В.

Известен консорциум, приготовленный на чистых культурах *Propionibacterium shermanii*, *Str.lactis sub.diacetylactis* и *Acetobacter aceti* (Тон). Использование этого консорциума для производства кисломолочного продукта обеспечивает повышенную биологическую ценность его, содержание пропионовокислых бактерий в 1 мл $10^8\text{-}10^9$,

- 20 молочнокислого стрептококка - $10^7\text{-}10^8$, уксуснокислых бактерий - $10^1\text{-}10^3$, титр антибиотической активности по отношению к *Staph. aureus* - 1:4, *E.coli* - 1:16(ТУ 10-02= 02-789-65-91, закваски бактериальные, дрожжи и тест-культуры. М., 1991, с. 8).

Сущность изобретения заключается в создании консорциума культур, состоящего из *Prop. shermanii*, *Str.thermophilus* и *Acetobacter aceti*, обладающего умеренной кислотообразующей активностью, антагонистической активностью, т. е. подавлять возбудителей кишечных заболеваний (*Staph. aureus*, *Sh.sonnei*, *E.coli*), устойчивого к фенолу, желчи, поваренной соли и продуцирующего витамины группы В.

Пропионовокислые бактерии в чистой культуре плохо развиваются в молоке и нуждаются в сопутствующих микроорганизмах, способных обогатить молоко доступным для них азотным питанием. С этой целью в консорциум введен термофильный молочнокислый стрептококк, который подрабатывает белки молока до легкоусвояемых форм (пептиды, аминокислоты) и тем самым обеспечивают развитие пропионовокислых бактерий в молоке.

Термофильный молочнокислый стрептококк сквашивает молоко за 4-6 часов, образует плотный вязкий сгусток с высокой восстановливающей способностью после механического воздействия, титруемая кислотность сгустка 60-80 град.Т. К моменту сквашивания молока pH среды составляет 4,7, что благоприятствует развитию и накоплению витаминов пропионово-кислыми бактериями.

Уксуснокислые бактерии в чистой культуре не развиваются в молоке, являясь автотрофами, они синтезируют аминокислоты, необходимые для азотного питания пропионовокислых бактерий. В процессе жизнедеятельности уксуснокислые бактерии потребляют молочную кислоту и повышают pH среды, что благоприятствует жизнедеятельности пропионовокислых и уксуснокислых бактерий.

Предлагаемый консорциум-РТА - получен путем сочетания трех штаммов, например *Propionibacterium shermanii* (Э-1), *Streptococcus thermophilus* 17T, *Acetobacter aceti* (15-11), обеспечивающих содержание в 1 мл кисломолочного продукта пропионовокислых бактерий - $10^8\text{-}10^9$, уксуснокислых бактерий - $10^1\text{-}10^3$, термофильного стрептококка - $10^7\text{-}10^8$.

Заявленный консорциум микроорганизмов является собственной селекцией авторов изобретения, хранится и поддерживается в специальных условиях при помощи пассирования на питательных средах, а также хранится в высушенном виде в коллекции молочнокислых бактерий и заквасок Центральной лаборатории микробиологии ВНИМИ.

Консорциум обладает стойкостью в процессе длительного пассирования на молоке и сохраняет количественное соотношение микроорганизмов.

Предлагаемый консорциум сквашивает молоко за 4-6 ч при внесении 5% закваски и при температуре 30-32 град. С до кислотности 70-80 град. Т. Консорциум при росте на молоке дает ровный плотный в меру вязкий сгусток и гомогенную консистенцию.

Консорциум синтезирует при развитии в молоке витамины:

5 B_{12} - 25-30 мкг/л; B_1 - 0,05-0,08 мг/%; B_2 - 0,2-0,7 мг/%.

Консорциум обладает высокой фагоустойчивостью, так как в его состав входит термофильный молочнокислый стрептококк, который устойчив к бактериофагам.

Консорциум устойчив к сезонным изменениям молока и дает плотный, вязкий сгусток, устойчивый к перемешиванию, обладающий высокой влагоудерживающей способностью.

10 Таким образом, создан консорциум микроорганизмов, состоящий из штаммов микроорганизмов - *Propionibacterium shermanii*, *Streptococcus thermophilus* и *Acetobacter aceti*, который отличается умеренной энергией кислотообразования, устойчив к содержанию в среде фенола (0,3%), желчи (20%), высокой антибиотической активностью.

15 Консорциум способен длительно сохраняться в лиофилизированном состоянии - в запаянных ампулах до 5 лет, во флаконах от 8 до 12 месяцев, при субкультивировании в лабораторных условиях выдерживает 6-7 пересадок.

Для получения консорциума РТА в стерильное молоко вносят 2-3% пропионовокислых бактерий, 2-3% термофильного молочнокислого стрептококка и 0,1 мл уксуснокислых бактерий на 100 мл молока. Сквашивание производится при 30-32 град. С в течение 6-8

20 ч. Кислотность закваски должна быть в пределах 70- 80 град. Т. Полученную закваску используют в количестве 5% для приготовления лабораторной или производственной закваски. Производственную закваску в количестве 5% используют для приготовления продуктов.

25 Закваска сквашивает молоко за 5-6 часов при внесении 5% с высокой антибиотической активностью, влагоудерживающей способностью (2,2 мл/10 мл), содержащей в 1 мл не менее 10^8 пропионовокислых бактерий, 10^7 термофильного молочнокислого стрептококка, 10^1 уксуснокислых бактерий.

Предложенный консорциум пригоден при производстве кисломолочных продуктов, заквасок, бактериальных концентратов для лечебно- профилактического питания.

30 Характеристика наиболее важных производственных свойств отдельных штаммов и консорциума представлена в таблице (см. в конце описания).

Пример 1. Стерильное молоко охлаждают до 32 град.С и заквашивают 5% консорциума РТА, состоящего из *P.shermanii* (Э-1) в количестве - 10^9 , *Str. thermophilus* 17T - 10^8 и *Acetobacter aceti* (15-11) - 10^2 . Сквашивание длилось 5 часов при 30 град.С. Кислотность закваски - 75 град. Т.

Микроскопический препарат - кокки и диплококки и цепочки из них.

Количество клеток микроорганизмов; пропионовокислых бактерий - $2,0\cdot10^9$, термофильных молочнокислых стрептококков - $1,2\cdot10^8$, уксуснокислых бактерий - 10^2 .

40 Органолептические показатели: вкус чистый, приятный, сливочный; консистенция - сметанообразная, гомогенная.

Количество витаминов: B_{12} - 20 мкг/л; B_1 - 0,063 мг/%, B_2 - 0,18 мг/%.

Пример 2. Стерильное молоко, охлажденное до 30 град. С, заквашивают 5% консорциума РТА, состоящего из *P.shermanii* (Э-1), *S.thermophilus* 17T, *Acetobacter aceti* (15-11) соответственно в количестве 10^9 , 10^7 , 10^3 клеток. Сквашивание проводят при 30 град. С в течение 5,5 ч. Кислотность готовой закваски 65 град. Т.

Органолептические показатели: вкус - сливочный, слегка щиплющий; количество клеток: пропионовокислых бактерий - $3,1\cdot10^8$; термофильного стрептококка - $8\cdot10^7$; уксуснокислых бактерий - 10^1 . Количество витаминов: B_{12} - 28 мкг/л; B_1 - 0,068 мг/%; B_2 - 0,185 мг/%.

50 Предложен также способ производства кисломолочного продукта с использованием описанного выше консорциума.

Известен способ производства кисломолочного продукта, предусматривающий нормализацию исходного молока добавлением сухого молока или сахарозы, пастеризацию

его и последующую гомогенизацию при 45-85 град. С и давлении 15 МПа, охлаждение до температуры 33- 37 град. С, заквашивание симбиотической закваской пропионовокислых, молочнокислых мезофильных ароматообразующих стрептококков и уксуснокислых бактерий, сквашивание до кислотности 56-64 град. Т в течение 3,5-5 ч, охлаждение до 5 14-20 град. С, внесение фруктового наполнителя или ароматизатора с доведением кислотности готового продукта до 80-100 град. Т. Продукт разливают и охлаждают в холодильной камере. Срок хранения продукта до 30 суток при 2-4 град. С (см. RU. патент N 2020829, кл. A 23 C 9/12, 1994).

Недостатком этого продукта является чувствительность закваски к качеству молока, к 10 сезонным изменениям качества сырья, в результате чего получается недостаточно вязкая консистенция.

Наиболее близким к заявленному является способ производства кисломолочного продукта "Тонус", согласно которому исходное молоко нормализуют, гомогенизируют, пастеризуют при 90-94 град.С с выдержкой 2-8 минут или 85-95 град.С в течение 10-15 15 минут, охлаждают до температуры 32-34 град. С, вносят 3-5% симбиотической закваски пропионовокислых, молочнокислых мезофильных ароматообразующих стрептококков и уксуснокислых бактерий. Сквашивают продукт до 68-76 град. Т, охлаждают в покое в течение 2-3 ч, перемешивают до 5-10 мин, охлаждают до 14-20 град. С, перемешивают и доохлаждают в расфасованной таре (см. ТУ 10-02-02- 63-88. Продукт кисломолочный 20 "Тонус"). Продукт, получаемый по этой технологии, хранится 7 дней.

Сущность изобретения - создание кисломолочного продукта с лечебно-профилактической направленностью за счет использования специально созданного консорциума, состоящего из P.shermanii, Str.thermophilus, A.aceti, синтезирующих витамины гр. В и получение продукта с высокими органолептическими и реологическими 25 свойствами.

Предлагаемый способ приготовления кисломолочного продукта осуществляют следующим образом.

Молоко цельное или обезжиренное нормализуют до содержания сухих веществ 13-14%, гомогенизируют при температуре 68-70 град.С и давлении 12,5 МПа, пастеризуют при 30 температуре 85-87 град. С с выдержкой 10-15 мин, охлаждают до температуры 32-34 град. С и вносят 5% закваски из консорциума РТА.

Сквашивание проводят при температуре 34-35 град. С в течение 5-6 ч до образования сгустка с pH 4,7-4,8 после чего продукт охлаждают до температуры 4-6 град. С. Срок хранения продукта 14-21 день при температуре 4-6 град. С.

35 Изобретение поясняется примерами.

Пример 3. В цельное коровье молоко с содержанием сухих веществ 11% (белок 2,8%) вносят сухое молоко до достижения сухих веществ 12,5%, тщательно перемешивают, очищают, подогревают до 55 град. С, гомогенизируют при давлении 15,0 МПа, пастеризуют при 90 град. С с выдержкой 3 мин, охлаждают до 30-32 град. С, вносят 5% закваски 40 консорциум РТА, состоящего из P.shermanii Э-1, Str.thermophilus 17T, A. aceti 15-11.

Сквашивание осуществляется до достижения кислотности 70 град.Т, после чего охлаждают до 20 град.С, разливают и доохлаждают в камере до 4 град.С. Кислотность готового продукта 80 град.Т.

Пример 4. В обезжиренное молоко с содержанием сухих веществ 8% (белок 2,9) вносят 45 сухое обезжиренное молоко до достижения сухих веществ 10%, 4,5% сахара, предварительно просеянного и растворенного в нормализованном по жиру молоке. Нормализованную смесь подогревают до 45 град.С, очищают, гомогенизируют при температуре 85 град.С и давлении 17,0 МПа, пастеризуют при 87 град. С с выдержкой 10 мин, охлаждают до 33-35 град. С и вносят 5% закваски консорциума РТА, состоящего из 50 P.shermanii Э-1, Str.thermophilus 17T, A.aceti 31-20. Сквашивание осуществляют до достижения кислотности 75 град. Т, после чего охлаждают до 25 град. С, вносят ароматизаторы, перемешивают, разливают и доохлаждают в камере до 4 град. С. Кислотность готового продукта 85 град. Т.

Формула изобретения

1. Консорциум микроорганизмов РТА коллекция ЦЛМ ВНИМИ, состоящий из
Propionibacterium shermanii Э-1, Streptococcus thermophilus 17T, Acetobacter aceti 15-
5 11, используемый для приготовления кисломолочных продуктов.
2. Способ производства кисломолочного продукта, предусматривающий нормализацию
исходного сырья, пастеризацию, охлаждение до температуры заквашивания, внесение
симбиотической закваски пропионовокислых бактерий, молочнокислых стрептококков и
уксуснокислых бактерий, сквашивание, охлаждение, перемешивание, розлив и
10 доохлаждение до 4 - 6°C, отличающийся тем, что охлаждение до температуры
заквашивания ведут до 32 - 42°C, в качестве симбиотической закваски используют
закваску, приготовленную на консорциуме микроорганизмов РТА Propionibacterium
shermanii Э-1, Streptococcus thermophilus 17T, Acetobacter aceti 15-11, а охлаждение
сквашенного продукта ведут до 20 - 25°C.
- 15 3. Способ по п.1, отличающийся тем, что используется обезжиренное молоко.
4. Способ по п.1, отличающийся тем, что исходное сырье нормализуют по содержанию
сухих веществ до 10 - 14%.
5. Способ по п.1, отличающийся тем, что в охлажденный сквашенный продукт вносят
ароматизатор или фруктовый наполнитель.
- 20 6. Способ по п.1, отличающийся тем, что при использовании ароматизаторов или
фруктовых наполнителей перед пастеризацией сырья вносят подслащающий агент.

25

30

35

40

45

50

Таблица

Показатели	<i>!Propion.</i>	<i>! Str.</i>	<i>! Acet.</i>	Консорциум
	<i>!shermanii</i>	<i>thermo!</i>	<i>aceti</i>	
	<i>! philus</i>			
Время свертывания молока при внесении 5%закваски	48 ч	4 ч	не свер- тывает	5-6 ч
Предельная кислотность, град. Т	50	100	-	80
Влагоудерживающая спо- собность, мл/10мл	0,5	2,6	-	2,2