

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **041084**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.09.12

(51) Int. Cl. *C12R 1/46* (2006.01)
A23C 9/12 (2006.01)

(21) Номер заявки
201991044

(22) Дата подачи заявки
2016.11.15

(54) **ТЕРМОФИЛЬНЫЕ СТРЕПТОКОККИ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ПРИГОТОВЛЕНИИ
ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ ПРОДУКТОВ**

(43) **2019.10.31**

(86) **PCT/EP2016/077620**

(87) **WO 2018/091063 2018.05.24**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
КОМПАНИ ЖЕРВЭ ДАНОН (FR)

(72) Изобретатель:
**Гаро Пегги, Маршалль Лоран, Сус
Мари-Аньес, Каппроннье Сандрин,
Лебарбаншон Маржори (FR)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A1-2013160413
KIM I. SORENSEN ET AL.: "ABSTRACT",
APPLIED AND ENVIRONMENTAL
MICROBIOLOGY, vol. 82, no. 12, 15 June 2016
(2016-06-15), pages 3683-3692, XP055337824, US
ISSN: 0099-2240, DOI: 10.1128/AEM.00462-16 the
whole document in particular abstract; Table 1; Fig. 1;
page 3687, col. 1, paragraph 4 'acidification of milk'
WO-A1-2015193459

(57) Изобретение относится к новым штаммам *Streptococcus thermophilus*, композициям, содержащим указанные штаммы, и способам получения данных композиций.

041084

B1

041084

B1

Область техники настоящего изобретения

Настоящее изобретение относится к новым штаммам *Streptococcus thermophilus*, композициям, содержащим указанные штаммы, и способам получения данных композиций.

Уровень техники настоящего изобретения

Streptococcus thermophilus (также называемый *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* и далее в данном документе *S.thermophilus*) - вид грамположительных молочнокислых бактерий, широко используемый для приготовления ферментированных молочных продуктов. *S.thermophilus* часто используется вместе с *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (также называемый *L. bulgaricus*) в качестве стартовой культуры для приготовления йогуртов и других видов ферментированного молока. Йогурты и другие ферментированные молочные продукты употребляются повсеместно и необходимы для здорового питания как источник необходимых питательных веществ. Однако ферментированные молочные продукты без вкусовых добавок имеют характерный кислый вкус, поэтому большей популярностью пользуются ароматизированные и подслащенные ферментированные молочные продукты. Повышение осведомленности потребителей о преимуществах диеты с низким содержанием сахара наряду с большим вниманием потребителя к "натуральным" продуктам привело к необходимости разработки ферментированных молочных продуктов с пониженным содержанием сахара, для приготовления которых применяются натуральные подсластители (например, стевия). Применение штаммов *S.thermophilus* и *L. bulgaricus*, характеризующихся высокой продукцией сахара, было также предложено в качестве средства повышения сладости ферментированных молочных продуктов.

В WO 2013/160413 раскрыты мутантные штаммы *S.thermophilus*, обладающие подслащивающими свойствами благодаря секреции глюкозы. Эти штаммы характеризуются мутацией в гене глюкокиназы (*glcK*) и описаны как подходящие для приготовления ферментированных молочных продуктов. Однако также раскрыто, что для таких штаммов процесс ферментации длится на 2-5 ч дольше, и требуется по меньшей мере 20 ч для ферментации. Sorensen с соавт. (*Appl Environ Microbiol.* 2016 Apr 22) также раскрывают секретирующие глюкозу штаммы *S.thermophilus* St1-GS-1; St1-GS-2; St2-GS-1; ST2-GS-2. Штаммы St1-GS-2 и St2-GS-2 не способны закислять молоко, а для штаммов, мутантных по глюкокиназе (т.е. St1-GS-1 и St2-GS-1) характерна задержка начала закисления на 2-3 ч по сравнению с родительскими штаммами.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение основано на неожиданном обнаружении того, что новые штаммы *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и CNCM I-4992 обладают подслащивающими свойствами, кроме того, эти штаммы исключительно полезны при приготовлении ферментированных молочных продуктов благодаря их способности подкислять молоко, но при этом снижать последующее закисление ферментированных молочных продуктов. Соответственно, в настоящем изобретении предусмотрены штаммы *Streptococcus thermophilus*, депонированные в CNCM под номерами CNCM I-5030 и CNCM I-4992. В настоящем изобретении также предусмотрены композиции, содержащие *S.thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992, и способы их получения.

Подробное описание настоящего изобретения

Как применяют в настоящем изобретении, термин "стабильная композиция" следует понимать как композицию, которая не содержит осадка и/или в которой не наблюдается расслоения сыворотки.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "x% (мас.%) эквивалентен "x г на 100 г".

Как применяют в настоящем изобретении, термины "молочная композиция", "композиция на основе молока" или "молочный продукт" следует понимать как продукт или композицию, в основном содержащие или состоящие из молока или компонентов молока и необязательно других ингредиентов.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "кисломолочный продукт" следует понимать как продукт или композицию, которые образуются в результате подкисляющего брожения композиции на основе молока со стартовой культурой ферментирующих микроорганизмов, в частности бактерий, предпочтительно молочнокислых бактерий. Как применяют в настоящем изобретении, термин "ферментированное молоко" следует понимать как продукт или композицию, полученную из молока подкисляющим воздействием на нее по меньшей мере одной молочнокислой бактерии. Соответственно, как применяют в настоящем изобретении, кисломолочный продукт может представлять собой ферментированное молоко, например, такое как йогурт (например, неперемешиваемый йогурт, перемешиваемый йогурт или питьевой йогурт) или свежий сыр, такой как белый сыр или "Пти-Сюисс (Petit-suisse)". Это также может быть процеженное ферментированное молоко, такое как процеженный йогурт (например, концентрированный или греческий йогурт).

Термины "ферментированное молоко" и "йогурт" применяют в настоящем изобретении в их обычном значении в области молочной промышленности, т.е. означают продукты, пригодные для употребления человеком и получаемые путем подкисляющего молочнокислого брожения веществ молока. Эти продукты могут содержать вторичные ингредиенты, такие как фрукты, овощи, сахар и т.п. Выражение "ферментированное молоко" можно применять для обозначения ферментированного молока, отличного от йогуртов, например "кефира", "кумыса", "ласси", "дахи", "Leben", "Filmjolk", "Villi", "ацидофильного молока".

Как применяют в настоящем изобретении, термин "йогурт" следует понимать, как ферментированное молоко, получаемое в результате подкисляющего молочнокислого брожения, осуществляемого термофильными молочнокислыми бактериями, такими как *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus* (также называемый *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*), при этом бактерии должны быть живыми в готовом продукте в минимальном количестве КОЕ. В некоторых странах правила позволяют добавлять в йогурт также другие молочнокислые бактерии, такие как, но не ограничиваясь этим, штаммы *Bifidobacterium*, и/или *Lactobacillus acidophilus*, и/или *Lactobacillus casei*. Эти дополнительные штаммы молочнокислых бактерий предназначены для придания готовым продуктам различных качеств, например, они обеспечивают органолептические свойства, благоприятствуют равновесию кишечной микрофлоры или модулируют иммунную систему.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "процеженная кисломолочная композиция" следует понимать, как молочнокислую композицию, которая была подвергнута способу отделения кислой сыворотки после ферментации.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "вязкий" следует понимать, как твердый или полутвердый продукт, который может потребляться с помощью ложки или другой посуды.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "брожение", или "ферментация", следует понимать, как метаболизм веществ микроорганизмами, например, бактериями, дрожжами или другими микроорганизмами.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "КОЕ" является аббревиатурой термина "колониеобразующая единица".

Как применяют в настоящем изобретении, термин "CNCM 1-й далее 4-значное число" следует относить к штамму, хранящемуся в Национальной коллекции культур микроорганизмов (CNCM) 25 rue du Docteur Roux, Париж, Франция в соответствии с Будапештским договором, и имеющему номер доступа, соответствующий указанному 4-значному номеру, например CNCM 1-5030.

Как применяют в настоящем изобретении, ссылка на бактериальный штамм или виды должна включать функционально эквивалентные бактерии, полученные из них, такие как, но не ограничиваясь этим, мутанты, варианты или генетически трансформированные бактерии. Эти мутанты или генетически трансформированные штаммы могут представлять собой штаммы, в которых один или несколько эндогенных генов родительского штамма были мутированы, например, с целью модификации некоторых из их метаболических свойств (например, их способности ферментировать сахара, их устойчивости к закислению, их выживания при транспорте в желудочно-кишечном тракте, их свойств после закисления или продукции ими метаболитов). Это также могут быть штаммы, полученные в результате генетической трансформации родительского штамма путем введения одного или нескольких целевых генов, например, для придания указанным генетически трансформированным штаммам дополнительных физиологических свойств или для обеспечения им возможности экспрессировать белки терапевтического или профилактического назначения, что позволяет, таким образом, вводить эти белки посредством указанных штаммов. Эти мутанты или генетически трансформированные штаммы могут быть получены из родительского штамма обычными методами случайного или сайт-направленного мутагенеза и генетической трансформации бактерий, или методом, известным как "перетасовка генома". В настоящем тексте считается, что штаммы, мутанты и варианты, полученные из родительского вида или штамма, охватываются ссылкой на указанный родительский вид или штамм, например, фразы "*Streptococcus thermophilus*" и "CNCM 1-5030" следует понимать, как включающие штаммы, мутанты и варианты, полученных из них. Соответственно, как применяют в настоящем изобретении, ссылку на бактериальный штамм с указанием номера следует понимать, как включающую его варианты, идентичные по меньшей мере на 95% (см. Stackebrandt & Goebel, 1994, Int. J. Syst. Bacterial. 44:846-849). В наиболее предпочтительном варианте осуществления указанный вариант имеет по меньшей мере 97% идентичности с последовательностью 16S рРНК конкретного указанного штамма, более предпочтительно по меньшей мере 98% идентичности, более предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности или больше.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "по существу чистый" в отношении бактериального штамма относится к проценту указанного бактериального штамма относительно общего содержания микроорганизмов. По существу, чистый может составлять по меньшей мере около 99,99%, по меньшей мере около 99,90%, по меньшей мере около 99,50%, по меньшей мере около 99,00%, по меньшей мере около 95,00%, по меньшей мере около 90,00%, по меньшей мере около 85,00% или по меньшей мере около 75,00%.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "молочнокислая бактерия" относится к грамположительной, кислотоустойчивой, обычно не спорообразующей и не потребляющей кислород бактерии, либо палочковидной, либо кокковидной формы, которая способна сбраживать сахара в молочную кислоту.

Настоящее изобретение относится к новым штаммам *Streptococcus thermophilus*, композициям, включающим указанный штамм, и способам получения данных композиций.

Streptococcus thermophilus.

В первом аспекте настоящее изобретение относится к штаммам *Streptococcus thermophilus*. В пер-

вом варианте осуществления настоящее изобретение относится к штамму *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030. Этот штамм был помещен на хранение в Национальную коллекцию культур микроорганизмов (CNCM) (Институт Пастера, 25 Rue du Docteur Roux, Париж, Франция) в соответствии с Будапештским договором 26 ноября 2015 г. под номером CNCM I-5030. Депонирование было осуществлено в соответствии с Будапештским договором о признании депонирования микроорганизмов для целей патентной процедуры, как указано в заявке, заявитель требует предоставлять образец депонированных микроорганизмов только независимому эксперту, до даты, когда патент может быть получен. В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к выделенному штамму *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030, при этом предпочтительно указанный изолят является, по существу, чистым.

Во втором варианте осуществления настоящее изобретение относится к штамму *Streptococcus thermophilus* CNCM I-4992. Этот штамм был помещен на хранение в Национальную коллекцию культур микроорганизмов (CNCM) (Институт Пастера, 25 Rue du Docteur Roux, Париж, Франция) в соответствии с Будапештским договором 1 июля 2015 г. под номером CNCM I-4992. Депонирование было осуществлено в соответствии с Будапештским договором о признании депонирования микроорганизмов для целей патентной процедуры, как указано в заявке, заявитель требует предоставлять образец депонированных микроорганизмов только независимому эксперту, до даты, когда патент может быть получен. В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к выделенному штамму *Streptococcus thermophilus* CNCM I-4992, при этом предпочтительно указанный изолят является, по существу, чистым.

Композиции по настоящему изобретению.

Во втором аспекте в настоящем изобретении предусмотрены композиции, содержащие *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992. Предпочтительно композиция содержит по меньшей мере 10^6 , еще более предпочтительно по меньшей мере 10^7 и наиболее предпочтительно по меньшей мере 10^8 колониеобразующих единиц (КОЕ) *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992 на грамм композиции в соответствии с вариантами осуществления изобретения.

В вариантах осуществления композиция содержит от 10^5 до 10^{12} колониеобразующих единиц (КОЕ) *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992 на грамм композиции в соответствии с вариантами осуществления изобретения. В других вариантах осуществления композиция содержит от 10^6 до 10^{11} колониеобразующих единиц (КОЕ) *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992 на грамм композиции в соответствии с вариантами осуществления изобретения.

Бактерия, как предусмотрено в настоящем изобретении, пригодна для применения в съедобных композициях, соответственно, в одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, пригодной для употребления в пищу человеком предпочтительно пероральным способом. Соответственно, композиция содержит или состоит из съедобного вещества. Особенно предпочтительно, чтобы композиции в соответствии с вариантами осуществления изобретения, по существу, не содержали бы патогенных или токсикогенных веществ. Композиция в соответствии с вариантами осуществления изобретения может представлять собой лекарственное средство или фармацевтическую композицию. В наиболее предпочтительном варианте осуществления композиции в соответствии с изобретением может представлять собой нетерапевтическую композицию, предпочтительно нутрицевтическую композицию, питательную композицию и/или пищевую композицию. Наиболее предпочтительно, чтобы пищевая композиция представляла собой ферментированную пищевую композицию, предпочтительно кисломолочную композицию. Другие композиции в соответствии с вариантами осуществления изобретения также содержат пищевые добавки, пищевые ингредиенты, пищевые смеси, детское питание, молочные смеси первого уровня и молочные смеси второго уровня.

Композиция может содержать также дополнительные штаммы *Bifidobacterium* и/или молочнокислых бактерий; обычно 2, 3, 4 или более дополнительных штаммов. Примеры *Bifidobacterium*, которые можно применять, включают, но не ограничиваясь этим, *Bifidobacterium animalis* (например, *Bifidobacterium animalis* subsp. *animalis* или *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*); *Bifidobacterium longum*; *Bifidobacterium breve*; *Bifidobacterium bifidum*. Примеры молочнокислых бактерий, которые можно применять, включают, но не ограничиваясь этим, *Lactobacilli* (например, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus delbrueckii*, в частности *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* или *lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus rhamnosus*); *Lactococci* (например, *Lactococcus lactis*, обычно *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* или *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*). Предпочтительно композиция дополнительно содержит *Lactobacillus* и/или *Streptococcus*. Для приготовления йогурта композиция обычно содержит *Lactobacillus bulgaricus* (также называемый *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) и *Streptococcus thermophilus*, обязательно с дополнительными микроорганизмами, такими как, но не ограничиваясь этим, пробиотическими видами или другими видами, которые могут обеспечивать желаемые органолептические или другие свойства композиции, например дополнительные штаммы *Lactococcus lactis*.

Соответственно в одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, содержащей *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992 и дополнительно содержащей по меньшей мере один штамм *Lactobacillus bulgaricus*, и необязательно один или несколько штаммов *Lactococcus lactis* и/или *Bifidobacterium*.

Молочные композиции.

Штаммы по настоящему изобретению хорошо подходят для приготовления ферментированных композиций. Соответственно, в одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к молочной композиции, предпочтительно молочнокислой композиции. Молочная композиция по настоящему изобретению содержит молоко, предпочтительно ферментированное молоко. Предпочтительно композиция содержит по меньшей мере около 30% (мас.%) молока, более предпочтительно по меньшей мере около 50% (мас.%) молока и даже более предпочтительно по меньшей мере около 70% (мас.%) молока. В вариантах осуществления композиция содержит от 30 до 100% (мас.%) молока. В вариантах осуществления композиция содержит от 50 до 100% (мас.%) молока. В вариантах осуществления композиция содержит от 70 до 100% (мас.%) молока. Предпочтительно указанное молоко представляет собой растительное и/или животное молоко, более предпочтительно соевое, миндальное, овсяное, конопляное, пшеничное, кокосовое, рисовое, козье, овечьё, верблюжье, кобылье или коровье молоко и наиболее предпочтительно коровье молоко. Предпочтительно указанное молоко подвергают термообработке, обычно пастеризации, чтобы обеспечить стерильность. Предпочтительно указанную термообработку проводят до приготовления кисломолочной композиции.

Предпочтительно указанное молоко содержит обезжиренное, частично обезжиренное или необезжиренное молоко. Предпочтительно указанное молоко может быть в жидкой, порошкообразной и/или концентрированной форме. В одном из вариантов осуществления указанное молоко дополнительно содержит молочные компоненты, предпочтительно выбранные из группы, состоящей из сливок, казеина, казеината (например, казеината кальция или натрия), белков молочной сыворотки, в частности, в виде концентрата (WPC), белков молока, в частности, в виде концентрата (MPC), гидролизатов белков молока и их смеси. В одном из вариантов осуществления указанная смесь дополнительно содержит растительные и/или фруктовые соки. В одном из вариантов осуществления указанное молоко может быть обогащено дополнительными молочными компонентами или другими питательными веществами, такими как, но не ограничиваясь этим, витамины, минералы, микроэлементы или другие питательные микроэлементы.

Предпочтительно молочная композиция содержит более чем приблизительно 0,3 г на 100 г (по массе) свободной молочной кислоты, предпочтительнее более чем приблизительно 0,7 г или 0,6 г на 100 г (по массе) свободной молочной кислоты. В вариантах осуществления композиция содержит от 0,3 до 0,7 г на 100 г (по массе) свободной молочной кислоты.

Предпочтительно содержание белка в молочной композиции, по меньшей мере, эквивалентно содержанию белка в молоке, из которого она получена, предпочтительно составляет по меньшей мере приблизительно 2,5%, более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 3 или 3,5% (мас.%). Предпочтительно композиция имеет рН, равный или ниже 5, предпочтительно приблизительно от 3 до 4,5 и более предпочтительно приблизительно от 3,5 до 4,5.

Предпочтительно молочная композиция имеет вязкость ниже 2 00 мПа·с, более предпочтительно ниже 100 мПа·с и наиболее предпочтительно ниже 60 мПа·с при 10°C и скорости сдвига 64 с⁻¹. В вариантах осуществления композиция имеет диапазон вязкости от 1 до 200 мПа·с, от 1 до 100 мПа·с или от 1 до 60 мПа·с при 10°C и скорости сдвига 64 с⁻¹. В вариантах осуществления композиция имеет диапазон вязкости от 10 до 200 мПа·с, от 10 до 100 мПа·с или от 10 до 60 мПа·с при 10°C и скорости сдвига 64 с⁻¹. В вариантах осуществления композиция имеет диапазон вязкости от 30 до 200 мПа·с, от 30 до 100 мПа·с или от 30 до 60 мПа·с при 10°C при скорости сдвига 64 с⁻¹.

Кисломолочная композиция согласно вариантам осуществления изобретения предпочтительно представляет собой продукт, выбранный из группы, включающей йогурт, неперемешиваемый йогурт, перемешиваемый йогурт, жидкий йогурт, питьевой йогурт, замороженный йогурт, кефир, пахту, творог, сметану, свежий сыр и сыр. В одном из вариантов осуществления композиция в соответствии с вариантами осуществления изобретения представляет собой пригодную для питья композицию, более предпочтительно кисломолочный напиток, такой как, но не ограничиваясь этим, йогуртовый напиток, кефир и т.п. В альтернативном варианте осуществления композиция в соответствии с вариантами осуществления изобретения представляет собой вязкую композицию, такую как неперемешиваемый или перемешиваемый йогурт или их эквивалент.

В одном из вариантов осуществления кисломолочная композиция представляет собой процеженную кисломолочную композицию. Процеженная кисломолочная композиция предпочтительно имеет следующий состав (мас.%):

- от 8,5 до 11,0% белка молока,
- от 0,0 до 8,0% жира, например от 0,0 до 3,5% или от 3,5 до 8,0%,
- от 0,00 до 4,20% лактозы, например от 2,80 до 4,20%.

Значение рН процеженной кисломолочной композиции может составлять, например, от 3,80 до 4,65.

Предпочтительно композиция в соответствии с вариантами осуществления изобретения может храниться, транспортироваться и/или распределяться при температуре от 1 до 10°C в течение по меньшей

мере приблизительно 30 дней, по меньшей мере приблизительно 60 дней или по меньшей мере приблизительно 90 дней с момента упаковки, оставаясь при этом пригодной для употребления.

В вариантах осуществления молочные композиции по настоящему изобретению содержат по меньшей мере 10^5 КОЕ/г, более предпочтительно по меньшей мере 10^6 КОЕ/г, например по меньшей мере 10^7 КОЕ/г, например, по меньшей мере, 10^8 КОЕ/г, например, по меньшей мере, 10^9 КОЕ/г, например, по меньшей мере, 10^{10} КОЕ/г, например, по меньшей мере, 10^{11} КОЕ/г *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992 на 1 г молочной композиции. В вариантах осуществления композиции по настоящему изобретению содержат от 10^5 до 10^{12} или от 10^6 до 10^{10} колониеобразующих единиц (КОЕ) *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992 на 1 г композиции.

Предпочтительно композиция представляет собой упакованный продукт, который содержит по меньшей мере 10^6 , более предпочтительно по меньшей мере 10^7 и наиболее предпочтительно по меньшей мере 10^8 колониеобразующих единиц (КОЕ) *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992 на 1 г композиции в соответствии с вариантами осуществления изобретения после хранения, транспортировки и/или распределения при температуре от 1 до 10°C в течение по меньшей мере приблизительно 30 дней, по меньшей мере приблизительно 60 дней или по меньшей мере приблизительно 90 дней с момента упаковки.

В вариантах осуществления композиция представляет собой упакованный продукт, который содержит от 10^5 до 10^{12} или от 10^6 до 10^{10} колониеобразующих единиц (КОЕ) *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992 на 1 г композиции в соответствии с вариантами осуществления изобретения после хранения, транспортировки и/или распределения при температуре от 1 до 10°C в течение по меньшей мере приблизительно 30 дней, по меньшей мере приблизительно 60 дней или по меньшей мере приблизительно 90 дней с момента упаковки.

В вариантах осуществления молочная композиция дополнительно содержит вспомогательный препарат. Вспомогательные препараты известны специалисту в данной области техники. Они обычно применяются для изменения вкуса, вкусового ощущения и/или текстуры молочной композиции, например кисломолочной композиции. Их также можно применять для введения некоторых добавок, таких как питательные вещества. Они обычно включают подсластители, ароматизаторы, модификаторы цвета, злаки и/или фрукты. Вспомогательные препараты из фруктов представляют собой, например, суспензии или фруктовые препараты. Ароматизаторы включают, например, фруктовые ароматизаторы, ванильные ароматизаторы, карамельные ароматизаторы, кофейные ароматизаторы, шоколадные ароматизаторы.

Фруктовые препараты обычно содержат фрукты. Как применяют в настоящем изобретении, термин "фрукт" относится к любой форме фруктов, включая, например, цельные фрукты, кусочки фруктов, пюре, концентраты, соки и т.п.

Вспомогательный препарат или суспензия обычно содержит стабилизирующий агент, имеющий по меньшей мере один стабилизатор. Стабилизирующий агент может включать по меньшей мере два стабилизатора. Такие стабилизаторы известны специалисту в данной области техники. Они, обычно, помогают избежать разделения фаз твердых веществ, например, фруктов или экстрактов фруктов, и/или помогают избежать синерезиса. Они обычно обеспечивают некоторую вязкость композиции, например вязкость (вязкость по Боствику при 20°C) от 1 до 20 см/мин, предпочтительно от 4 до 12 см/мин.

Стабилизирующая система или стабилизатор могут представлять собой, например, крахмал, пектин, гуар, ксантан, каррагенан, камедь бобов рожкового дерева или их смесь. Количество стабилизирующей системы обычно составляет от 0,5 до 5 мас. %.

Вспомогательный препарат обычно может содержать модификаторы органолептических свойств. Такие ингредиенты известны специалисту в данной области техники.

Модификаторы органолептических свойств могут представлять собой, например, подсластители, отличные от сахара, красители, злаки и/или экстракты злаков.

Примерами подсластителей являются ингредиенты, называемые подсластителями высокой интенсивности, такие как сукралоза, ацесульфам калия, аспартам, сахарин.

Примеры фруктов включают, например, клубнику, персик, абрикос, манго, яблоко, грушу, малину, чернику, ежевику, маракуйю, вишню и их смесь или комбинацию, такие как персик-маракуйя.

Фрукты могут быть предусмотрены, например, в виде замороженных фруктовых кубиков, например, в виде кубиков фруктов размером 10 мм, например, в виде отдельных быстрозамороженных (Individual Quick Frozen) кубиков фруктов, например в виде фруктовых кубиков из клубники, персика, абрикоса, манго, яблока, груши или их смеси,

асептических фруктовых кубиков, например, в виде кубиков фруктов размером 10 мм, например в виде фруктовых кубиков из клубники, персика, абрикоса, манго, яблока или груши или их смеси,

фруктовых пюре, например фруктовые пюре, концентрированные от 2 до 5 раз, предпочтительно 3 раза, например асептические фруктовые пюре, например клубничное, персиковое, абрикосовое, манговое, малиновое, черничное или яблочное фруктовое пюре или их смеси,

отдельных асептических фруктовых пюре, например, в виде отдельного клубничного, малинового, персикового, абрикосового, черничного или яблочного асептического фруктового пюре или их смеси,

замороженных цельных фруктов, например, в виде отдельных быстрозамороженных (Individual

Quick Frozen) цельных фруктов, например, в виде цельной замороженной черники, малины или ежевики или их смеси,
их смеси.

Ингредиенты и/или компоненты вспомогательного препарата и их количества обычно могут быть такими, чтобы композиция имела градус плотности Брикса от 1 до 65 брикс, например от 1 до 10 брикс, или от 10 до 15 брикс, или от 15 до 20 брикс, или от 20 до 25 брикс, или от 25 до 30 брикс, или от 30 до 35 брикс, или от 35 до 40 брикс, или от 40 до 45 брикс, или от 45 до 50 брикс, или от 50 до 55 брикс, или от 55 до 60 брикс, или от 60 до 65 брикс.

Например, фруктовый препарат может содержать фрукты в количестве от 30 до 80 мас.%, например от 50 до 70 мас.%.

Вспомогательный препарат может содержать воду. Упомянуто, что часть воды может поступать из ингредиентов, применяемых для приготовления фруктового препарата, например из фруктов или фруктовых экстрактов или из раствора фосфорной кислоты.

Фруктовый препарат может содержать модифицирующие pH агенты, такие как лимонная кислота. Фруктовый препарат имеет pH от 2,5 до 5, предпочтительно от 2,8 до 4,2.

Обычно, фруктовый препарат можно добавлять в количестве 5-35 мас.% в пересчете на общее количество композиции. В вариантах осуществления композиция по настоящему изобретению содержит приблизительно до 30 мас.% указанного вспомогательного препарата, например до 10, 15, 20, 25 мас.%. В одном из вариантов осуществления композиция в соответствии с вариантами осуществления изобретения содержит от 1 до 30 мас.% указанного вспомогательного препарата. В альтернативных вариантах осуществления композиция в соответствии с вариантами осуществления изобретения содержит от 1 до 25 мас.% указанного вспомогательного препарата. В других альтернативных вариантах осуществления композиция в соответствии с вариантами осуществления изобретения содержит от 1 до 20 мас.% указанного вспомогательного препарата. В дополнительных вариантах осуществления композиция в соответствии с вариантами осуществления изобретения содержит от 1 до 15 мас.% указанного вспомогательного препарата. В других дополнительных вариантах осуществления композиция в соответствии с вариантами осуществления изобретения содержит от 1 до 10 мас.% указанного вспомогательного препарата.

Предпочтительно композиция в соответствии с вариантами осуществления изобретения предусмотрена в герметичном или герметизированном контейнере, содержащем приблизительно 50, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 200, 300, 320 или 500 г или приблизительно 1 унцию, 2 унции, 3 унции, 4 унции, 5 унций, 6 унций или 12 унций продукта по массе.

В вариантах осуществления композиция в соответствии с вариантами осуществления изобретения предусмотрена герметичном или герметизированном контейнере, содержащем приблизительно от 50 до 500 г, от 60 до 500 г, от 70 до 500 г, от 75 до 500 г, от 80 до 500 г, 85 до 500 г, от 90 до 500 г, от 95 до 500 г, от 100 до 500 г, от 105 до 500 г, от 110 до 500 г, от 115 до 500 г, от 120 до 500 г, от 125 до 500 г, от 130 до 500 г, от 135 до 500 г, от 140 до 500 г, от 145 до 500 г, от 150 до 500 г, от 200 до 500 г, от 300 до 500 г, от 320 до 500 г или 500 г продукта по массе. В вариантах осуществления композиция в соответствии с вариантами осуществления изобретения предусмотрена в герметичном или герметизированном контейнере, содержащем приблизительно от 1 до 12 унций, от 2 до 12 унций, от 3 до 12 унций, от 4 до 12 унций, от 5 до 12 унций, от 6 до 12 унций или 12 унций продукта по массе.

Композиции инокулятов.

Бактерию, как описано в настоящем изобретении, можно применять как стартовую культуру при приготовлении пищевых композиций, таких как кисломолочные продукты. Соответственно, в одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к инокуляту, содержащему *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992, который подходит для приготовления кисломолочных продуктов. Инокулят по настоящему изобретению подходит для прямой инокуляции *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992 в композицию, содержащую молоко для получения кисломолочных продуктов по настоящему изобретению, при этом стадия культивирования перед указанной прямой инокуляцией обычно не является необходимой.

Обычно инокулят дополнительно содержит вспомогательное вещество или носители, выбор которых находится в пределах компетенций специалиста в данной области техники, но может содержать буферы или культуральные среды. Инокулят может необязательно содержать дополнительные компоненты, такие как криопротекторы, консерванты и/или добавки, включая питательные вещества, такие как дрожжевые экстракты, цистеин, сахара и витамины.

Обычно инокулят предназначен для приготовления кисломолочных продуктов, в соответствии с одним из вариантов осуществления инокулят по настоящему изобретению может быть предусмотрен для молочной композиции в количестве приблизительно до 500 мг/л.

Обычно инокулят является свежим, замороженным, сухим или лиофилизированным. Инокулят может быть в жидкой, сухой, лиофилизированной или твердой форме. Особенно предпочтительно, чтобы инокулят был в жидкой форме. Инокулят может быть разморожен и/или диспергирован в жидкости (например, в воде) перед инокуляцией в композицию, содержащую молоко.

В вариантах осуществления инокулят содержит по меньшей мере 10^9 КОЕ, например по меньшей

мере, 10^{10} КОЕ, например по меньшей мере 10^{11} КОЕ *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992 на 1 г композиции инокулята. В вариантах осуществления инокулят содержит от 10^9 до 10^{12} колониобразующих единиц (КОЕ) или более предпочтительно от 10^{10} до 10^{12} колониобразующих единиц (КОЕ) *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992 на 1 г инокулята.

Обычно, инокулят, содержащий *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 или CNCM I-4992, является, по существу, чистым.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к смеси или набору инокулятов по настоящему изобретению вместе с инокулятом *Bifidobacterium* и/или молочнокислых бактерий.

Примеры *Bifidobacterium*, которые можно применять, включают *Bifidobacterium animalis* (например, *Bifidobacterium animalis* subsp. *animalis* или *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*); *Bifidobacterium longum*; *Bifidobacterium breve*; *Bifidobacterium bifidum*, но не ограничиваясь этим. Примеры молочнокислых бактерий, которые можно применять, включают *Lactobacilli* (например, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus buchnerii*, *Lactobacillus delbrueckii*, в частности *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* или *lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus rhamnosus*); *Lactococci* (например, *Lactococcus lactis*, обычно *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* или *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*), но не ограничиваясь этим. Предпочтительно смесь инокулятов дополнительно содержит *Lactobacillus* и/или *Streptococcus*. Для приготовления йогурта смесь инокулятов обычно включает *Lactobacillus bulgaricus* (также называемый *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) и *Streptococcus thermophilus*, необязательно с дополнительными микроорганизмами, такими как, но не ограничиваясь этим, пробиотическими видами или другими видами, которые могут обеспечить желаемые органолептические или другие свойства композиции, например *Lactococcus lactis*.

Соответственно, в одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к смеси инокулятов, содержащей инокулят *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992 и дополнительно содержащей по меньшей мере один инокулят *Lactobacillus bulgaricus*, и необязательно один или несколько дополнительных инокулятов *Lactococcus lactis* и/или *Bifidobacterium*.

Способы получения кисломолочных продуктов.

Бактерию, как предусмотрено в настоящем изобретении, можно применять в приготовлении кисломолочных продуктов.

Соответственно, в третьем аспекте настоящее изобретение также относится к предполагаемому применению *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992 для приготовления пищевой композиции.

В настоящем изобретении предусмотрен способ получения кисломолочной продукции, включающий инокуляцию в композицию на основе молока штамма *S.thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992 *rhamnosus* CNCM I-4993 и ферментацию.

Соответственно, в одном из вариантов осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ, включающий следующие стадии:

i) получение смеси, содержащей

a) молоко,

б) *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992,

ii) ферментацию указанной смеси для получения кисломолочного продукта.

Предпочтительно кисломолочные продукты готовят с применением молока, которое подвергается термической обработке, по меньшей мере, эквивалентной пастеризации. Предпочтительно указанную термообработку проводят до приготовления композиции.

Обычно молоко пастеризуют в соответствии со следующими последовательными этапами:

1) стандартизация жировых веществ сырья с целью получения стандартизованного вещества,

2) обогащение высушенным веществом стандартизованного вещества, полученного на предыдущей стадии, с целью получения обогащенного вещества,

3) предварительный нагрев обогащенного вещества, полученного на предыдущей стадии, с целью получения исходного вещества,

4) пастеризация и выдерживание исходного вещества, полученного на предыдущей стадии, с целью получения пастеризованного и выдержанного вещества,

5) необязательная стадия гомогенизации пастеризованного и выдержанного вещества, полученного на предыдущей стадии, с целью получения пастеризованного, выдержанного и необязательно гомогенизированного вещества,

6) начальное охлаждение пастеризованного, выдержанного и необязательно гомогенизированного вещества, полученного на предыдущей стадии, с целью получения пастеризованного исходного вещества, выдержанного и необязательно гомогенизированного, и охлажденного.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "стандартизация жировых веществ" означает стадию приведения количества жиров, присутствующих в исходном веществе, к заранее заданному уровню. Обогащение высушенным веществом включает добавление белков и жирового вещества для изменения твердости свернувшегося молока.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "выдерживание" означает быстрое нагревание и

поддержание высокой температуры молока, которое позволяет уничтожить вегетативную бактериальную микрофлору, включая патогенные формы. Обычная продолжительность выдерживания составляет от 4 до 10 мин, в частности от 5 до 8 мин, и, в частности, приблизительно 6 мин.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "гомогенизация" означает диспергирование жировых веществ в молочной субстанции до состояния мелких жировых шариков. Гомогенизацию проводят, например, под давлением от 100 до 280 бар, в частности от 100 до 250 бар, в частности от 100 до 200 бар, в частности приблизительно 200 бар. Эта стадия гомогенизации является необязательной. В частности, она отсутствует в способе производства продуктов с 0% жировых веществ.

Обычно кисломолочный продукт получают путем культивирования молока при подходящей температуре с подходящими микроорганизмами, чтобы обеспечить снижение pH предпочтительно до pH, равного или ниже 5, предпочтительно приблизительно от 3 до 4,7; более предпочтительно приблизительно от 3,5 до 4,7. Значение pH можно регулировать, контролируя ферментацию микроорганизмом и останавливая ее, когда это необходимо, например, путем охлаждения.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления способа получения кисломолочного продукта, как это определено выше, смесь, содержащая молоко и *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992, дополнительно содержит по меньшей мере один, два, три или больше штаммов *Bifidobacterium* и/или молочнокислых бактерий. Выбор подходящих штаммов *Bifidobacterium* находится в пределах компетенций квалифицированного специалиста и обычно ими являются пробиотические молочнокислые бактерии. Примеры *Bifidobacterium*, которые можно применять, включают, но не ограничиваясь этим, *Bifidobacterium animalis* (например, *Bifidobacterium animalis* subsp. *animalis* или *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*); *Bifidobacterium longum*; *Bifidobacterium breve*; *Bifidobacterium bifidum*.

Выбор подходящих штаммов молочнокислых бактерий находится в пределах компетенций специалиста в данной области техники и обычно ими являются термофильные молочнокислые бактерии. Примеры молочнокислых бактерий, которые можно применять, включают, но не ограничиваясь этим, *Lactobacilli* (например, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus delbrueckii*, в частности *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* или *lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus rhamnosus*); *Lactococci* (например, *Lactococcus lactis*, обычно *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* или *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*).

Обычно можно применять смесь или комбинацию множества видов молочнокислых бактерий, обычно смесь или комбинацию *Lactobacillus* и *Streptococcus*. Для приготовления йогурта смесь или комбинация обычно содержит *Lactobacillus bulgaricus* (также называемый *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) и *Streptococcus thermophilus*, необязательно с дополнительными микроорганизмами, такими как, но не ограничиваясь этим, пробиотическими видами или другими видами, которые могут обеспечивать желаемые органолептические или другие свойства композиции, например *Lactococcus lactis*.

Соответственно в одном из вариантов осуществления смесь дополнительно содержит по меньшей мере один штамм *Lactobacillus bulgaricus* и необязательно один или несколько штаммов *Lactococcus lactis* и/или *Bifidobacterium*.

Подходящие температуры для ферментации молока обычно составляют приблизительно от 36 до 44°C, и такая температура поддерживается в течение времени инкубации, достаточного для обеспечения желаемого снижения pH. Для приготовления кисломолочного продукта температура в начале ферментации обычно составляет приблизительно от 36 до 43°C, в частности приблизительно от 37 до 40°C, температура в конце ферментации обычно составляет приблизительно от 37 до 44°C, в частности приблизительно от 38 до 41°C. Время ферментации обычно составляет приблизительно от 6 до 11 ч.

После ферментации ферментированное молоко охлаждают. Необязательно может быть проведен этап промежуточного охлаждения ферментированного молока с получением предварительно охлажденного ферментированного молока с температурой от приблизительно 22°C до приблизительно 4°C. Обычно время промежуточного охлаждения составляет от приблизительно 1 ч до приблизительно 4 ч, в частности от приблизительно 1 ч 30 мин до приблизительно 2 ч. Предварительно охлажденное ферментированное молоко обычно хранится в течение 40 ч или менее.

Предпочтительно стадию финального охлаждения ферментированного молока проводят таким образом, чтобы температура в начале стадии финального охлаждения составляла приблизительно менее 22°C, а температура в конце стадии финального охлаждения составляла от приблизительно 4°C до приблизительно 10°C. Далее охлажденный продукт можно хранить, транспортировать и/или распределять при температуре от приблизительно 1 до приблизительно 10°C в течение по меньшей мере приблизительно 30 дней, по меньшей мере приблизительно 60 дней или по меньшей мере приблизительно 90 дней.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления способ получения кисломолочного продукта, как это определено выше, необязательно включает стадию перемешивания под давлением по меньшей мере 20 бар, или стадию динамического разравнивания для получения композиции, имеющей желаемую вязкость, обычно вязкость до 20 мПа·с. Операции перемешивания или динамического разравнивания обеспечивают композиции такую консистенцию, которая обычно позволяет снизить вязкость. Такие операции известны специалисту в данной области техники и могут быть осуществлены с применением обычного подходящего оборудования. Эту стадию обычно проводят при низкой температуре, напри-

мер при температуре от 1 до 20°C. Не имея в виду связь с какой-либо теорией, отметим, что считается, что придание какой-либо консистенции при низкой температуре обычно путем перемешивания при высоком давлении или путем динамического разравнивания может приводить к образованию жидкого геля в композиции, что обеспечивает улучшенную стабильность даже при низкой вязкости до 20 мПа·с.

Альтернативно, согласно еще одному варианту осуществления способ получения кисломолочного продукта, как это определено выше, необязательно включает стадию удаления кислой сыворотки с получением "процеженной кисломолочной композиции". На этой стадии композицию кислой сыворотки отделяют от свернувшегося молока, полученного в результате коагуляции белка из-за подкисления во время ферментации. Таким образом, получают

кисломолочный продукт, обычно содержащий коагулят белков, называемый процеженной кисломолочной композицией, и

побочный продукт кислую сыворотку.

Такие этапы разделения известны специалисту в данной области техники, например, в способах изготовления "греческих йогуртов". Разделение можно проводить, например, путем обратного осмоса, ультрафильтрации или центрифугирования. Стадию разделения можно проводить, например, при температуре от 30 до 45°C.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления способ получения кисломолочного продукта, как это определено выше, необязательно включает стадию добавления вспомогательного препарата, как это описано выше, перед или после ферментации, указанный вспомогательный препарат обычно включает препарат фруктов и/или злаков и/или добавки, такие как ароматизаторы и/или красители.

Изобретение будет дополнительно проиллюстрировано следующими неограничивающими фигурами и примером.

Описание фигур

На фиг. 1 показана кинетика закисления молока для штамма *S.thermophilus* CNCM I-4992, определенная в соответствии с примером 1. Время в минутах отложено по оси X, значения pH отложены по оси Y,

на фиг. 2 - кинетика закисления молока для штамма *S.thermophilus* CNCM I-5030, определенная в соответствии с примером 1. Время в минутах отложено по оси X, значения pH отложены по оси Y,

на фиг. 3 - график, отражающий закисление ферментированного молока со временем, жизнеспособность *S.thermophilus* и текстурирующие свойства для панели из более чем 40 штаммов *S.thermophilus* в соответствии с примером 2. Закисление ферментированного молока со временем отложено вдоль оси X как увеличение кислотности по Дорнику ферментированного молока в процессе хранения на протяжении 28 дней. Жизнеспособность *S.thermophilus* отложена по оси Y и определена как уменьшение количества колониеобразующих единиц на протяжении 28 дней. Каждому протестированному штамму соответствует на графике отдельная круглая точка, при этом штаммы различаются между собой вязкостью ферментированного молока, для штаммов, обозначенных точкой в квадрате, измеренная вязкость составляет $0,25 \text{ Па}\cdot\text{с}^{-1}$, для штаммов, обозначенных просто точкой, вязкость составляет $0,25\text{-}0,5 \text{ Па}\cdot\text{с}^{-1}$, для штаммов, обозначенных точкой в пятиугольнике, измеренная вязкость составляет $0,5\text{-}0,75 \text{ Па}\cdot\text{с}^{-1}$, а для штаммов, обозначенных просто точкой в треугольнике, измеренная вязкость составляет $0,75\text{-}1,1 \text{ Па}\cdot\text{с}^{-1}$.

на фиг. 4 - кислотность по Дорнику для тестируемого ферментированного молока в соответствии с примером 3. Кислотность была измерена в 3 временных точках; 0 день (белый прямоугольник), 14 день (черный прямоугольник) и 28 день (серый прямоугольник),

на фиг. 5 - изменение кислотности тестируемого и контрольного ферментированного молока на протяжении 28 дней в соответствии с примером 4,

на фиг. 6 - кинетика закисления тестируемого (темно-серый) и контрольного (светло-серый) ферментированного молока, определенная в соответствии с примером 4. Время в минутах отложено по оси X, значения pH отложены по оси Y.

Примеры

Был проведен скрининг более чем 40 штаммов *S.thermophilus* для выявления штаммов, которые, во-первых, пригодны для приготовления ферментированных молочных продуктов, и которые также обеспечивают таким продуктам повышенную сладость за счет влияния на процесс закисления продукта во время хранения и улучшения консистенции. Были отобраны два штамма *S.thermophilus* на основании их высокой жизнеспособности, хорошей способности вызывать закисление молока, а также улучшать консистенцию (повышенная вязкость), наряду с обеспечением ими более медленного закисления во время хранения. Свойства штаммов придавать продуктам повышенную сладость определяли с помощью дегустационной комиссии, оценивающей два типа ферментированных молочных продукта.

Пример 1. Закисление молока штаммами CNCM I-5030 и CNCM I-4992 и их жизнеспособность.

Восстановленное молоко получали смешиванием 137,5 г сухого обезжиренного молока (Arla) на 1 л пермутированной воды и пастеризовали при 95°C в течение 45 мин, для штамма CNCM I-5030 добавляли 0,5% Vitalarmor 950 (Armor Proteins). Штаммы бактерий были предоставлены в замороженном виде компанией Danone. Штаммы (1%) инокулировали в восстановленное молоко из культуры, полученной из

молока, обогащенного 0,2% дрожжевого экстракта, полученного в свою очередь путем инокуляции 1% штамма с первой стадии культивирования в среде M17, инокулированной бактериальным штаммом в замороженном виде. Ферментацию проводили при 37°C и контролировали с помощью pH-зонда CINAC. Полученное ферментированное молоко охлаждали и хранили при 10°C для определения жизнеспособности штамма и последующего закисления ферментированного молока в процессе хранения на протяжении 28 дней.

Штаммы *S.thermophilus* CNCM I-1630 и CNCM I-2130, применяемые для приготовления коммерчески доступных ферментированных молочных продуктов, использовали в качестве эталонов для CNCM I-5030 и CNCM I-4992, соответственно, при определении пригодности этих штаммов для приготовления ферментированных молочных продуктов.

Как видно по кривым закисления молока, представленным на фиг. 1 и 2, штаммы *Streptococcus thermophilus* CNCM I-5030 и CNCM I-4992 способны прекрасно ферментировать молоко. По данному показателю штаммы CNCM I-5030 и CNCM I-4992 сопоставимы с коммерчески используемыми штаммами CNCM I-1630 и CNCM I-2130 соответственно.

Пример 2. Характеристики ферментированного молока, полученного с применением CNCM I-5030 и CNCM I-4992.

Дальнейшее закисление в процессе хранения ферментированных молочных продуктов влияет на их вкус и связано с продолжающейся продукцией молочной кислоты бактериальными культурами в течение срока годности продуктов. Чтобы охарактеризовать способность штаммов *S.thermophilus* к такому закислению, были приготовлены ферментированные молочные продукты с применением штаммов, указанных в примере 1. Изменение градусов кислотности Дорника в ферментированном молоке определяли в течение 28 дней хранения при 10°C. Также определяли жизнеспособность штаммов *S.thermophilus*, измеряя количество бактерий в колониеобразующих единицах (КОЕ). Текстурирующие свойства штаммов определяли, измеряя вязкость. Вязкость измеряли путем постепенного увеличения напряжения сдвига, используя реометр с двумя коаксиальными цилиндрами (RM 180, Mettler). Портативный цилиндр (вращающийся) n°1 использовали вместе со стационарным цилиндром (неподвижный) n°1. В течение 10 с при 10°C на тестируемый продукт оказывали воздействие до скорости сдвига 64 с⁻¹.

Результаты приведены на фиг. 3, предпочтительным является отсутствие изменений градусов Дорника (т.е. отсутствие дальнейшего закисления). Количество бактерий *S.thermophilus* определяли, измеряя количество КОЕ в начале и в конце периода хранения, предпочтительным является сохранение высоких значений КОЕ и отсутствие закисления в процессе хранения. Как показано на фиг. 3, для тестируемых штаммов CNCM I-5030 и CNCM I-4992 характерно приемлемое закисление, хорошие текстурирующие свойства и хорошая жизнеспособность штаммов.

Пример 3.

Стартовые культуры ферментированных молочных продуктов, как правило, содержат комбинацию штаммов *S.thermophilus* и *L. bulgaricus*. Соответственно, чтобы охарактеризовать процесс закисления этими штаммами ферментированных молочных продуктов, штамм CNCM I-4992 тестировали в комбинации с 3 различными штаммами *L. bulgaricus*. Пригодный для употребления в пищу ферментированный молочный продукт готовили путем сбраживания пастеризованной молочной смеси (13,75% сухого обезжиренного коровьего молока в пермутированной воде, пастеризованного при 95°C в течение 45 мин) с йогуртной стартовой культурой (*L. delbrueckii*, *S.thermophilus*). Ферментацию проводили при 37°C и контролировали с помощью зонда CINAC. Ферментацию останавливали быстрым охлаждением при достижении pH 4,7. Изменение градусов кислотности Дорника в ферментированном молоке определяли в течение 28 дней хранения при 10°C. Как показано на фиг. 4, дальнейшее закисление ферментированного молока было незначительным.

Пример 4. Тестирование ферментированного молочного продукта.

В качестве стартовой культуры для приготовления тестируемого ферментированного молочного продукта применяли комбинацию штаммов CNCM I-5030 и CNCM I-4992 и штамма *L. bulgaricus* (CNCM I-2787) (тестируемый продукт). В качестве эталонной йогуртной (*Vitalinea*TM) стартовой культуры применяли два штамма *S.thermophilus* и *L. bulgaricus* (контроль). Закваски, предоставленные в виде замороженных гранул, размораживали перед применением при 38°C, жидкие закваски добавляли в молочную смесь до 0,02% по объему. Пригодный для употребления в пищу ферментированный молочный продукт готовили из гомогенизированной и пастеризованной молочной смеси: 95% молочной основы (молоко, сухое обезжиренное молоко и сливки) и 5% сахара, которую подвергали ферментации с тестируемой и контрольной стартовыми культурами. Ферментацию проводили при 38°C до pH 4,6 (6-7 ч). Полученное ферментированное молоко перемешивали миксером (*Ystral*), охлаждали до 20°C и хранили при 10°C в течение 30 дней. Изменение градусов кислотности Дорника определяли в конце периода хранения. На фиг. 6 приведены кривые закисления ферментированного молока, полученного с применением тестируемой (темно-серый) и контрольной (светло-серый) стартовых культур, по которым видно, что кинетика закисления контрольной стартовой культурой и тестируемой стартовой культурой сопоставимы и обе являются приемлемыми. Как видно на фиг. 5, тестируемый продукт, содержащий штаммы по изобретению, закисляется медленнее.

Такие характеристики тестируемого и эталонного продуктов, как сладость, кислотность, плотность и общие молочные ноты оценивались группой волонтеров. Продукты тестировали на 14 и 28 день хранения при 10°C. В результате обнаружено, что ферментированные молочные продукты, приготовленные с применением тестируемой стартовой культуры, оказались слаще, чем ферментированные молочные продукты, приготовленные с применением эталонной стартовой культуры.

Пример 5. Оценка сладости ферментированного молочного продукта.

Для "мягкого сыра" (свежий сыр), обогащенного кальцием, было подтверждено, что продукты, приготовленные с применением тестируемой стартовой культуры в соответствии с примером 4 (CNCM I-5030 + CNCM I-4992 + *L. bulgaricus*), имеют повышенную сладость по сравнению с продуктами, приготовленными с применением контрольной стартовой культуры.

Пригодный для употребления в пищу ферментированный молочный продукт готовили путем сбраживания пастеризованной молочной смеси: 93,85% молочной основы (молоко, сухое обезжиренное молоко и сливки), 1,5% крахмала, 4,5% сахара и 0,15% кальция с тестируемыми и контрольными стартовыми культурами. Ферментацию проводили при 38°C до pH 4,6 (6-7 ч). Сравнение двух продуктов проводилось группой добровольцев, которые оценивали наличие сыворотки (визуально), цвет, плотность, кислотность, насыщенность фруктами, густоту во рту и неприятные ощущения. Между тестируемым и контрольным продуктами не было обнаружено существенных различий по наличию сыворотки (определялось визуально), цвету, плотности, сладости, кислотности, насыщенности фруктами, густоте во рту и неприятным ощущения. Однако для тестируемого продукта была отмечена повышенная сладость, а также различия в плотности.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Штамм *Streptococcus thermophilus*, депонированный в CNCM под номером CNCM I-5030, для приготовления ферментированных пищевых продуктов.

2. Штамм *Streptococcus thermophilus*, депонированный в CNCM под номером CNCM I-4992, для приготовления ферментированных пищевых продуктов.

3. Композиция для приготовления ферментированных пищевых продуктов, содержащая по меньшей мере 10^5 КОЕ/г штамма *Streptococcus thermophilus*, депонированного в CNCM под номером CNCM I-5030, или штамма *Streptococcus thermophilus*, депонированного в CNCM под номером CNCM I-4992.

4. Композиция по п.3, отличающаяся тем, что ферментированный пищевой продукт представляет собой молочную композицию.

5. Композиция по п.3 или 4, дополнительно содержащая по меньшей мере один штамм *Bifidobacterium* или молочнокислых бактерий.

6. Композиция по п.3, отличающаяся тем, что указанная композиция является инокулятом.

7. Композиция по п.5 или 6, отличающаяся тем, что указанная композиция является свежей, замороженной, сухой или лиофилизированной.

8. Композиция по п.5, в которой указанный штамм молочнокислых бактерий включает по меньшей мере один штамм *Lactobacillus*.

9. Композиция по п.8, дополнительно включающая один или несколько штаммов, выбранных из группы, состоящей из *Lactococcus lactis* и *Bifidobacterium*.

10. Способ получения кисломолочного продукта, включающий:

i) получение смеси, содержащей

а) молоко,

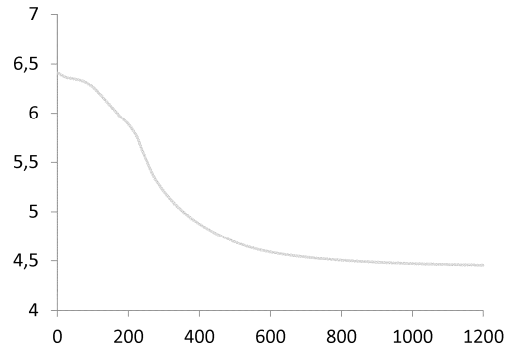
б) *S.thermophilus* CNCM I-5030 и/или CNCM I-4992,

ii) ферментацию указанной смеси для получения кисломолочного продукта.

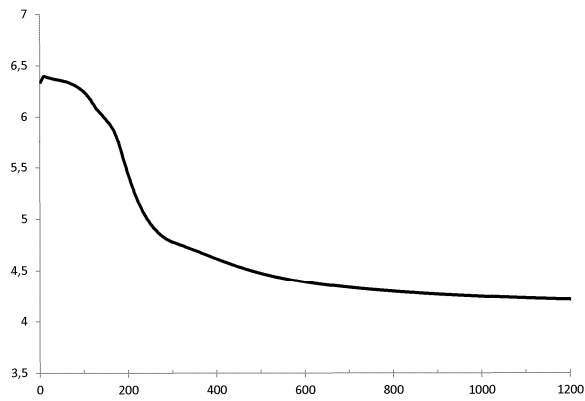
11. Способ по п.10, в котором смесь дополнительно содержит по меньшей мере один штамм *Bifidobacterium* или молочнокислых бактерий.

12. Способ по п.11, в котором указанный штамм молочнокислых бактерий включает по меньшей мере один штамм *Lactobacillus*.

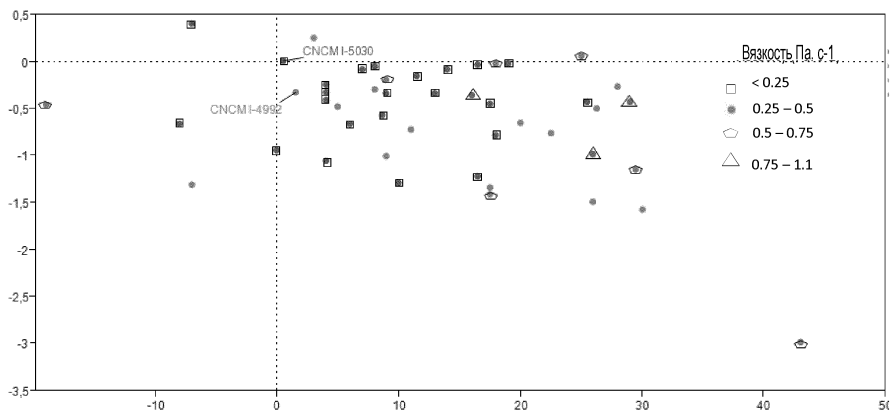
13. Способ по п.11, в котором указанный штамм молочнокислых бактерий включает по меньшей мере один штамм *Lactococcus lactis*.



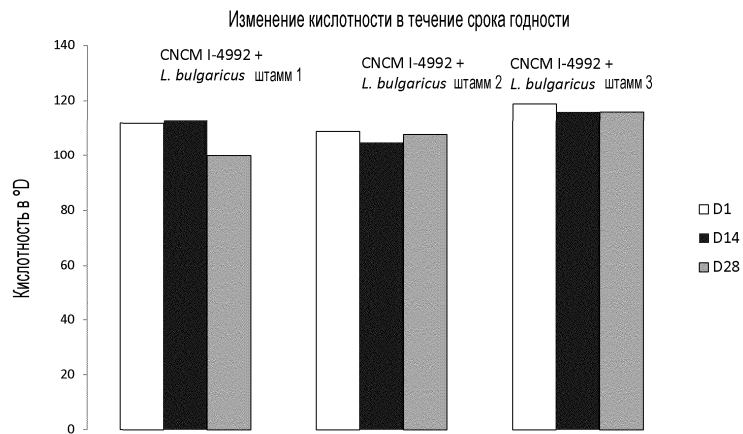
Фиг. 1



Фиг. 2

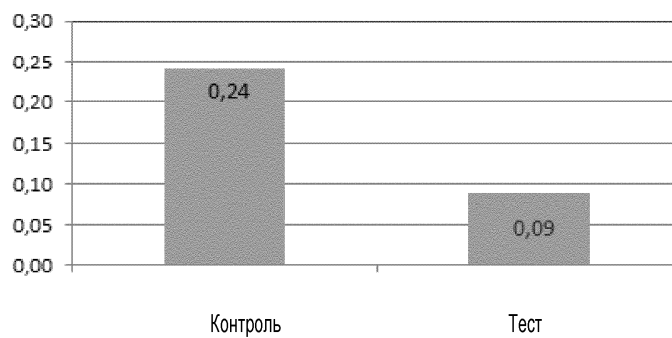


Фиг. 3

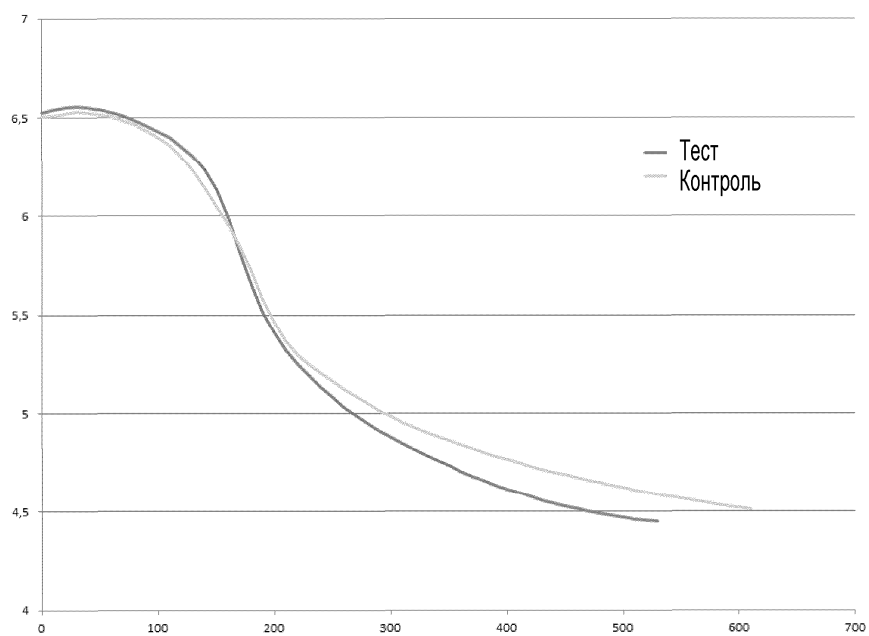


Фиг. 4

Изменение кислотности во время хранения



Фиг. 5



Фиг. 6

