

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202290583** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2022.06.01

(22) Дата подачи заявки
2020.09.11

(51) Int. Cl. *C12R 1/00* (2006.01)
A23L 33/135 (2016.01)
A23C 9/12 (2006.01)
A23C 9/123 (2006.01)
A23C 9/127 (2006.01)
A23L 2/38 (2006.01)
A23L 7/104 (2016.01)
C12R 1/01 (2006.01)

(54) **МОЛОЧНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ ДЛЯ ТЕРМИЧЕСКИ ОБРАБОТАННОГО ПИЩЕВОГО ПРОДУКТА, ПРИГОДНОГО ДЛЯ ХРАНЕНИЯ ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

(31) **19196915.3**

(32) **2019.09.12**

(33) **EP**

(86) **PCT/EP2020/075468**

(87) **WO 2021/048350 2021.03.18**

(71) Заявитель:
КХР. ХАНСЕН А/С (DK)

(72) Изобретатель:

**Гиллеладен Кристиан, Пребнер
Виктория, Созренсен Ким Иб (DK)**

(74) Представитель:

**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)**

(57) Способ получения пищевого продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды, включающий предоставление пищевого продукта, имеющего рН от 3,4 до 4,4, термическую обработку этого пищевого продукта с получением термически обработанного пищевого продукта, асептическое добавление к этому термически обработанному пищевому продукту одного или более штаммов молочнокислых бактерий, способных храниться в условиях окружающей среды, с получением пищевого продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды, и хранение пищевого продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды, при температуре окружающей среды в течение некоторого периода времени, где штамм молочнокислых бактерий, способный храниться при температуре окружающей среды, выбран из группы, состоящей из штаммов, (1) где штамм способен сохранять жизнеспособность в конце 120 суток при температуре 25°C, (2) где рН снижается не более чем на 0,8 единиц во время периода хранения и (3) где штамм выбран из группы, состоящей из штаммов рода *Opencoccus* и их мутантов.

A1

202290583

202290583

A1

РСТ/ЕР2020/075468

МПК: *C12R 1/00* (2006.01) *A23C 9/127* (2006.01)
A23L 33/135 (2016.01) *A23L 2/38* (2006.01)
A23C 9/12 (2006.01) *A23L 7/104* (2016.01)
A23C 9/123 (2006.01) *C12R 1/01* (2006.01)

**МОЛОЧНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ ДЛЯ ТЕРМИЧЕСКИ ОБРАБОТАННОГО
ПИЩЕВОГО ПРОДУКТА, ПРИГОДНОГО ДЛЯ ХРАНЕНИЯ ПРИ
ТЕМПЕРАТУРЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к молочнокислым бактериям, которые пригодны для добавления к термически обработанному пищевому продукту, имеющему рН от 3,4 до 4,4, предназначенному для хранения при температуре окружающей среды.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

В последние годы широко используются ферментированные молочные продукты, такие как йогурты, которые можно хранить, транспортировать, обрабатывать и употреблять в неохлажденном состоянии, то есть при температуре окружающей среды, в течение нескольких месяцев. Такие йогурты позволяют потребителю носить йогурт с собой в течение некоторого периода времени, без необходимости в охлаждении, так же как это возможно для целого ряда напитков, и, следовательно, такие йогурты являются очень удобными для потребителя. Чтобы обеспечить такой продолжительный срок хранения при температуре окружающей среды, йогурт подвергают термической обработке после окончания процесса ферментации, чтобы убить или по меньшей мере ингибировать дальнейшее увеличение массы молочнокислых бактерий, используемых в процессе ферментации. Живые бактерии и дальнейший рост молочнокислых бактерий заквасочной культуры могут привести к продолжению брожения и, как следствие, к последующему закислению. Термическая обработка может, например, представлять собой процесс пастеризации или ультравысокотемпературный процесс (УНТ). Такие йогурты иногда называют пастеризованными йогуртами или йогуртами, пригодными для хранения в условиях окружающей среды.

Пастеризованные йогуртные продукты не содержат или содержат незначительное количество жизнеспособных молочнокислых бактерий. Тем не менее

желательно, чтобы пастеризованные йогуртные продукты содержали молочнокислые бактерии и/или пробиотические бактерии, чтобы обеспечить потребителей различными полезными воздействиями таких бактерий, например, полезными преимуществами биологически активных пищевых добавок. Конечно, добавление живых бактерий к пастеризованным йогуртным продуктам, предназначенным для хранения при температуре окружающей среды, создает техническую проблему, связанную с тем, что бактерии будут размножаться до такой степени, что йогурт испортится, например, из-за снижения pH вследствие повышения концентрации молочной кислоты в результате ферментации. В предшествующем уровне техники эту техническую задачу решали несколькими разными путями. Например, бактериальные культуры для включения в пастеризованные йогуртные продукты добавляли в виде спор. Кроме того, культуры бактерий для включения в пастеризованные йогуртные продукты добавляли в виде порошкообразных, сухих, лиофилизированных, покрытых оболочкой или инкапсулированных культур. Кроме того, культуры бактерий для добавления к пастеризованным йогуртным продуктам инактивировали, например, посредством облучения, микроволновой обработки, антибиотиков, мягкой пастеризации, химических агентов (ингибиторов) или корректировки pH, активности воды или температуры.

В WO2009/116864 раскрыт молочный продукт, содержащий споры пробиотических бактерий, который можно хранить без охлаждения в течение длительного периода времени.

В WO2004/069156 раскрыты пищевые продукты, содержащие пробиотические бактерии, которые инактивированы посредством облучения, микроволновой обработки, антибиотиков, мягкой пастеризации и химических агентов (ингибиторов).

В EP1289380 B1 раскрыты пищевые продукты, такие как молочные продукты, содержащие нежизнеспособные бактерии *Lactobacillus*. Указанные бактерии *Lactobacillus* можно сделать нежизнеспособными, например, посредством мягкой термической обработки, корректировки pH или активности воды.

В EP1514553 B1 раскрыт порошок молочнокислых бактерий с двойной оболочкой с высоким уровнем выживаемости в организме человека, где указанные молочнокислые бактерии покрыты двойной оболочкой из белка и полисахарида.

В CN101323850 раскрыт способ получения микрокапсул *Lactobacillus helveticus* в микроинкапсулированной форме, имеющих большую термостойкость.

В EP0555618 В1 раскрыт диетический продукт, содержащий лиофилизированные молочнокислые бактерии.

В CN102492643 раскрыт штамм *Lactobacillus rhamnosus* GRX19 и его применение в заквасочной культуре для получения ферментированного молочного продукта, содержащего живые бактерии *Lactobacillus*. Ферментированный молочный продукт подвергают термической обработке, например при 70-75°C в течение 15-20 секунд, и данный штамм *Lactobacillus* является устойчивым к указанной термической обработке, так что часть бактерий, например 10exp7 колониеобразующих единиц (КОЕ)/мл, выживает при этой термической обработке. После термической обработки термически обработанный продукт асептически помещают в контейнер и хранят при комнатной температуре в течение, например, 30 суток.

В WO2015/169928 раскрыта жидкая молочная композиция, подходящая для изготовления вспененного молочного продукта, где композиция является пригодной для длительного хранения в условиях окружающей среды, имеет рН от 3,8 до 4,4 и содержит ферментированное молоко, вплоть до 0,12% гидролизованного сывороточного белка, вплоть до 5% жира и вплоть до 1% пектина высокой степени метилэтерификации.

В US20100009034 раскрыт способ приготовления ферментированного молочного напитка, сохраняющего высокий уровень жизнеспособных клеток при температуре окружающей среды, включающий ферментацию молока с использованием обычной заквасочной культуры молочнокислых бактерий, разбавление, смешивание и стерилизацию и добавление к этому смешанному молочному напитку *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 в асептических условиях.

В US20100015285 раскрыт способ получения непосредственно подкисленного молочного напитка с сохранением большого количества жизнеспособных клеток при температуре окружающей среды, включающий осуществление непосредственного подкисления путем доведения рН до 4,0-4,5 с получением подкисленного молочного напитка, стерилизацию и добавление к этому смешанному молочному напитку *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 вместе с 0,01-0,3% стимуляторов роста, например углевода, в асептических условиях.

В WO 2017/194650 раскрыт способ получения пищевого продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды, включающий предоставление пищевого продукта с рН от 3,4 до 4,4, термическую обработку пищевого продукта с получением

термически обработанного пищевого продукта и асептическое добавление к термически обработанному пищевому продукту одного или более штаммов молочнокислых бактерий, способных храниться в условиях окружающей среды, выбранных из группы, состоящей из *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus fermentum* и *Lactobacillus delbrueckii* подв. *bulgaricus* и их мутантов и вариантов.

Существует необходимость в разработке улучшенных пастеризованных йогуртных продуктов, содержащих жизнеспособные молочнокислые бактерии.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к способу получения пищевого продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды, в котором пищевой продукт был приготовлен путем ферментации заквасочной культуры молочнокислых бактерий, термической обработки для инактивации молочнокислых бактерий для предотвращения или по существу предотвращения последующего закисления и добавления к термически обработанному пищевому продукту штаммов рода *Oenococcus* и происходящих из него мутантов.

Один аспект настоящего изобретения относится к способу получения пищевого продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды, включающему предоставление пищевого продукта, имеющего рН от 3,4 до 4,4, осуществление термической обработки пищевого продукта для уменьшения количества бактерий до не более чем 1×10^2 КОЕ/г с получением термически обработанного пищевого продукта, асептическое добавление к этому термически обработанному пищевому продукту одного или более штаммов молочнокислых бактерий, способных храниться в условиях окружающей среды, в общем количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г с получением пищевого продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды, и хранение пищевого продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды, при температуре окружающей среды в течение некоторого периода времени,

где штамм молочнокислых бактерий, способный храниться в условиях окружающей среды, выбран из группы, состоящей из штаммов,

(1) где штамм при добавлении в количестве $1,0 \times 10^7$ КОЕ/г к ферментированному молочному тестируемому продукту в виде йогурта, полученному посредством ферментации с помощью заквасочной культуры, содержащей

Streptococcus thermophilus и *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, при температуре 43°C до pH 4,3, который был термически обработан при 75°C в течение 30 секунд, способен сохранять жизнеспособность в количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г в конце периода хранения тестируемого продукта, составляющего 120 суток, при температуре 25°C, и

(2) где pH тестируемого продукта снижается не более чем на 0,8 единиц во время периода хранения, и

(3) где штамм выбран из группы, состоящей из штаммов рода *Oenococcus* и их мутантов.

Настоящее изобретение основано на неожиданном экспериментальном обнаружении того, что бактериальные штаммы рода *Oenococcus* при добавлении к йогуртному продукту, подвергаемому хранению при температуре окружающей среды, способны сохранять жизнеспособность на определенном уровне без снижения уровня pH в какой-либо значительной степени в течение периода по меньшей мере 120 суток. Это является неожиданным результатом, так как в молочном субстрате молочнокислые бактерии будут расти на доступном источнике углеводов, снижая pH до уровня, при котором бактерии не могут жить, так что, в общем случае, молочнокислые бактерии в молочном субстрате либо будут находиться в растущем pH-снижающем состоянии, либо будут мертвыми.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к пищевому продукту, пригодному для хранения в условиях окружающей среды, содержащему штамм молочнокислых бактерий, способный храниться в условиях окружающей среды, где продукт имеет pH от 3,4 до 4,4, где продукт содержит по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г штамма, где пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, хранят при температуре окружающей среды в течение некоторого периода времени, и

где штамм молочнокислых бактерий выбран из группы, состоящей из штаммов,

(1) где штамм при добавлении в количестве $1,0 \times 10^7$ КОЕ/г к ферментированному молочному тестируемому продукту в виде йогурта, полученному посредством ферментации с помощью заквасочной культуры, содержащей *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, при температуре 43°C до pH 4,3, который был термически обработан при 75°C в течение 30 секунд, способен сохранять жизнеспособность в количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г в

конце периода хранения тестируемого продукта, составляющего 120 суток, при температуре 25°C, и

(2) где рН тестируемого продукта снижается не более чем на 0,8 единиц во время периода хранения, и

(3) где штамм выбран из группы, состоящей из штаммов рода *Oenococcus* и их мутантов.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ получения пищевого продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды

Настоящее изобретение относится к способу получения пищевого продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды, включающему предоставление пищевого продукта, имеющего рН от 3,4 до 4,4, термическую обработку этого пищевого продукта для уменьшения уровня бактерий до не более чем 1×10^2 КОЕ/г, с получением термически обработанного пищевого продукта, асептическое добавление к этому термически обработанному пищевому продукту одного или более штаммов молочнокислых бактерий, способных храниться в условиях окружающей среды, в общем количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г с получением пищевого продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды, и хранение пищевого продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды, при температуре окружающей среды в течение некоторого периода времени,

где штамм молочнокислых бактерий, способный храниться при температуре окружающей среды, выбран из группы, состоящей из штаммов,

(1) где штамм при добавлении в количестве $1,0 \times 10^7$ КОЕ/г к ферментированному молочному тестируемому продукту в виде йогурта, полученному посредством ферментации с помощью заквасочной культуры, содержащей *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, при температуре 43°C до рН 4,3, который был термически обработан при 75°C в течение 30 секунд, способен сохранять жизнеспособность в количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г в конце периода хранения тестируемого продукта, составляющего 120 суток, при температуре 25°C, и

(2) где рН тестируемого продукта снижается не более чем на 0,8 единиц во время периода хранения, и

(3) где штамм выбран из группы, состоящей из штаммов рода *Oenococcus* и их мутантов.

В предпочтительном воплощении штамм, способный храниться в условиях окружающей среды, способен сохранять жизнеспособность в количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г, предпочтительно по меньшей мере $5,0 \times 10^3$ КОЕ/г, более предпочтительно по меньшей мере $1,0 \times 10^4$ КОЕ/г, более предпочтительно по меньшей мере $5,0 \times 10^4$ КОЕ/г и наиболее предпочтительно по меньшей мере $1,0 \times 10^5$ КОЕ/г в конце периода хранения.

Предпочтительно, рН снижается не более чем на 0,7, предпочтительно на 0,6, предпочтительно на 0,5, предпочтительно на 0,4, предпочтительно на 0,3 и наиболее предпочтительно на 0,2 во время периода хранения.

В предпочтительном воплощении изобретения штамм при добавлении в количестве $1,0 \times 10^7$ КОЕ/г к тестируемому продукту увеличивает количество клеток до по меньшей мере $5,0 \times 10^7$ КОЕ/г, предпочтительно до $7,5 \times 10^7$ КОЕ/г и наиболее предпочтительно до $1,0 \times 10^8$ КОЕ/г.

Предпочтительно, увеличение количества клеток происходит в пределах 45 суток после добавления штамма к тестируемому продукту, предпочтительно в пределах 40 суток, предпочтительно в пределах 35 суток, предпочтительно в пределах 30 суток, предпочтительно в пределах 25 суток, предпочтительно в пределах 20 суток и наиболее предпочтительно в пределах 15 суток. Предпочтительно, количество клеток достигает максимума в пределах 45 суток после добавления штамма к тестируемому продукту, предпочтительно в пределах 40 суток, предпочтительно в пределах 35 суток, предпочтительно в пределах 30 суток, предпочтительно в пределах 25 суток, предпочтительно в пределах 20 суток и наиболее предпочтительно в пределах 15 суток.

В конкретном воплощении изобретения пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, хранят при температуре окружающей среды в течение периода по меньшей мере одни сутки, предпочтительно по меньшей мере 2 суток, более предпочтительно по меньшей мере 3 суток, более предпочтительно по меньшей мере 4 суток, более предпочтительно по меньшей мере 5 суток, более предпочтительно по меньшей мере 6 суток, более предпочтительно по меньшей мере 7 суток, более предпочтительно по меньшей мере 8 суток, более предпочтительно по меньшей мере 9 суток и наиболее предпочтительно по меньшей мере 10 суток.

В предпочтительном воплощении изобретения штамм *Oenococcus* выбран из группы, состоящей из штамма *Oenococcus oeni*, штамма *Oenococcus kitaharae*, штамма *Oenococcus sicerae* и их мутантов. В конкретном воплощении изобретения штамм *Oenococcus* выбран из группы, состоящей из штамма *Oenococcus oeni* и его мутантов.

В предпочтительном воплощении изобретения штамм *Oenococcus* по изобретению выбран из группы, состоящей из штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33144, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33145, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33146, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33147, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 14498, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 15568, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 15569, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 15570, и штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 15571, и их мутантов.

В предпочтительном воплощении изобретения штамм *Oenococcus* по изобретению выбран из группы, состоящей из штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33144, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33145, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33146, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33147, и штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 14498, и их мутантов.

В предпочтительном воплощении изобретения штамм *Oenococcus* по изобретению представляет собой цитрат-отрицательный штамм. Термин «цитрат-отрицательный» используют в контексте настоящего изобретения для характеристики штамма, который при помещении в среду, содержащую заданное количество лимонной кислоты, способен разлагать не более 80% указанной лимонной кислоты. В частности, штамм *Oenococcus* по изобретению при помещении в среду, содержащую заданное количество лимонной кислоты, способен разлагать не более 70%, предпочтительно не более 60%, более предпочтительно не более 50%, более предпочтительно не более 40%, более предпочтительно не более 30%, более предпочтительно не более 20%, более предпочтительно не более 15% и наиболее предпочтительно не более 10% указанной лимонной кислоты.

Цитрат-отрицательные штаммы *Oenococcus* описаны в WO2004/113488, которая включена в данное описание посредством ссылки. В предпочтительном воплощении изобретения цитрат-отрицательный штамм *Oenococcus* по изобретению выбран из

группы, состоящей из штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM15568, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM15569, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM15570, и штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM15571, и их мутантов.

В предпочтительном воплощении изобретения штамм *Oenococcus* по изобретению является сахарозоположительным.

В предпочтительном воплощении изобретения штамм *Oenococcus* по изобретению является глюкозоположительным.

В предпочтительном воплощении изобретения штамм *Oenococcus* по изобретению является галактозоположительным.

В предпочтительном воплощении изобретения штамм *Oenococcus* по изобретению является фруктозоположительным.

В предпочтительном воплощении изобретения штамм *Oenococcus* по изобретению является лактозодефицитным.

Способность штаммов *Oenococcus* по изобретению расти на различных источниках углеводов может быть протестирована с использованием методики, описанной в Примере 2.

В конкретном воплощении способа по изобретению пищевой продукт, имеющий рН от 3,4 до 4,4, представляет собой ферментированный с помощью заквасочной культуры молочный продукт, полученный посредством ферментации молочного субстрата с использованием заквасочной культуры молочнокислых бактерий с получением ферментированного с помощью заквасочной культуры молочного продукта.

В конкретном воплощении способа по изобретению ферментированный с помощью заквасочной культуры молочный продукт имеет содержание белка более 5,1% по массе (масс./масс.).

В конкретном воплощении способа по изобретению ферментированный с помощью заквасочной культуры молочный продукт не подвергают разбавлению.

Ниже способ по изобретению будет описан более подробно в отношении процесса получения ферментированного молочного продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды.

Заквасочная культура может представлять собой любую обычную заквасочную культуру молочнокислых бактерий, включая одноштаммовую культуру и смесь

культур, используемую для получения определенного типа ферментированного молочного продукта. В предпочтительном воплощении вышеуказанного способа по изобретению ферментацию выполняют так, чтобы получить рН от 3,0 до 5,0, предпочтительно от 3,9 до 4,8, более предпочтительно от 4,0 до 4,6 и наиболее предпочтительно от 4,1 до 4,4.

Термическую обработку для уменьшения уровня бактерий заквасочной культуры до не более чем $1,0 \times 10^2$ КОЕ/г ферментированного молока предпочтительно осуществляют путем воздействия на ферментированный заквасочной культурой молочный продукт температуры от 50°C до 90°C, предпочтительно от 60°C до 85°C, более предпочтительно от 65°C до 82°C и наиболее предпочтительно от 70°C до 80°C. Термическую обработку предпочтительно выполняют в течение периода от 10 секунд до 180 секунд, предпочтительно от 12 секунд до 120 секунд, более предпочтительно от 14 секунд до 90 секунд, более предпочтительно от 16 секунд до 60 секунд, более предпочтительно от 18 секунд до 50 секунд и наиболее предпочтительно от 20 до 40 секунд. Предпочтительно, уровень бактерий заквасочной культуры уменьшают до не более чем $1,0 \times 10^1$ КОЕ/г ферментированного молока, более предпочтительно до 0 КОЕ/г.

Штамм молочнокислых бактерий для использования в пищевом продукте, пригодном для хранения в условиях окружающей среды

В одном аспекте настоящее изобретение относится к штамму молочнокислых бактерий для использования в пищевом продукте, пригодном для хранения в условиях окружающей среды, где продукт имеет рН от 3,4 до 4,4, где продукт содержит по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г штамма, где пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, хранят при температуре окружающей среды в течение некоторого периода времени, и

где штамм молочнокислых бактерий выбран из группы, состоящей из штаммов,

(1) где штамм при добавлении в количестве $1,0 \times 10^7$ КОЕ/г к ферментированному молочному тестируемому продукту в виде йогурта, полученному посредством ферментации с помощью заквасочной культуры, содержащей *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, при температуре 43°C до рН 4,3, который был термически обработан при 75°C в течение 30 секунд, способен сохранять жизнеспособность в количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г в

конце периода хранения тестируемого продукта, составляющего 120 суток, при температуре 25°C, и

(2) где рН тестируемого продукта снижается не более чем на 0,8 единиц во время периода хранения, и

(3) где штамм выбран из группы, состоящей из штаммов рода *Oenococcus* и их мутантов.

В конкретном воплощении штамма по настоящему изобретению продукт представляет собой химически подкисленный продукт.

В конкретном воплощении штамма по настоящему изобретению продукт представляет собой ферментированный молочный продукт, полученный посредством ферментации молочного субстрата с использованием заквасочной культуры молочнокислых бактерий, где продукт содержит не более 1×10^2 КОЕ заквасочной культуры/г и по меньшей мере 1×10^3 КОЕ/г штамма молочнокислых бактерий, способного храниться в условиях окружающей среды.

В конкретном воплощении штамма по настоящему изобретению продукт представляет собой ферментированный молочный продукт, полученный посредством ферментации молочного субстрата с использованием заквасочной культуры молочнокислых бактерий, где ферментированный молочный продукт после ферментации был подвергнут термической обработке для уменьшения уровня бактерий заквасочной культуры до не более чем 1×10^2 КОЕ/г, и где после термической обработки к термически обработанному продукту был асептически добавлен штамм, способный храниться в условиях окружающей среды, согласно аспекту 1 в количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г. Предпочтительно, штамм по изобретению, способный храниться в условиях окружающей среды, асептически добавляли к термически обработанному продукту в количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^4$ КОЕ/г, более предпочтительно по меньшей мере $1,0 \times 10^5$ КОЕ/г, более предпочтительно по меньшей мере $1,0 \times 10^6$ КОЕ/г, более предпочтительно по меньшей мере $1,0 \times 10^7$ КОЕ/г и наиболее предпочтительно по меньшей мере $1,0 \times 10^8$ КОЕ/г.

Штамм рода *Oenococcus* по настоящему изобретению описан выше в контексте способа по изобретению, на который сделана ссылка.

Штамм по изобретению может быть приготовлен в виде композиции, содержащей один или более штаммов по изобретению. Таким образом, в одном

воплощении штамм по изобретению приготовлен в виде композиции, содержащей один штамм по изобретению. В другом воплощении штамм приготовлен в виде композиции, содержащей два или более штаммов по изобретению. Композиция может находиться в форме лиофилизированных или замороженных гранул.

Пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды

В одном воплощении изобретение относится к пищевому продукту, пригодному для хранения в условиях окружающей среды, содержащему штаммы молочнокислых бактерий, способные храниться в условиях окружающей среды, где продукт имеет рН от 3,4 до 4,4, где продукт содержит по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г штамма, где пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, хранят при температуре окружающей среды в течение некоторого периода времени, и

где штамм молочнокислых бактерий выбран из группы, состоящей из штаммов,

(1) где штамм при добавлении в количестве $1,0 \times 10^7$ КОЕ/г к ферментированному молочному тестируемому продукту в виде йогурта, полученному посредством ферментации с помощью заквасочной культуры, содержащей *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, при температуре 43°C до рН 4,3, который был термически обработан при 75°C в течение 30 секунд, способен сохранять жизнеспособность в количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г в конце периода хранения тестируемого продукта, составляющего 120 суток, при температуре 25°C, и

(2) где рН тестируемого продукта снижается не более чем на 0,8 единиц во время периода хранения, и

(3) где штамм выбран из группы, состоящей из штаммов рода *Oenococcus* и их мутантов.

В одном воплощении изобретение относится к пищевому продукту, пригодному для хранения в условиях окружающей среды, где указанный продукт представляет собой химически подкисленный продукт.

В одном воплощении изобретение относится к пищевому продукту, пригодному для хранения в условиях окружающей среды, где указанный продукт представляет собой ферментированный молочный продукт, полученный посредством ферментации молочного субстрата с использованием заквасочной культуры молочнокислых бактерий, где продукт содержит не более 1×10^2 КОЕ заквасочной культуры/г и по

меньшей мере 1×10^3 КОЕ/г штамма молочнокислых бактерий, способного храниться в условиях окружающей среды.

В одном воплощении изобретение относится к пищевому продукту, пригодному для хранения в условиях окружающей среды, где указанный продукт представляет собой ферментированный молочный продукт, полученный посредством ферментации молочного субстрата с использованием заквасочной культуры молочнокислых бактерий, где ферментированный молочный продукт после ферментации был подвергнут термической обработке для уменьшения уровня бактерий заквасочной культуры до не более чем 1×10^2 КОЕ/г, и где после термической обработки к термически обработанному продукту был асептически добавлен штамм, способный храниться в условиях окружающей среды, согласно аспекту 1 в количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г.

В одном воплощении изобретение относится к пищевому продукту, пригодному для хранения в условиях окружающей среды, где штамм *Oenococcus* выбран из группы, состоящей из *Oenococcus oeni*, *Oenococcus kitaharae*, *Oenococcus sicera* и их мутантов.

В одном воплощении изобретение относится к пищевому продукту, пригодному для хранения в условиях окружающей среды, где штамм выбран из группы, состоящей из штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33144, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33145, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33146, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33147, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 14498, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 15568, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 15569, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 15570, и штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 15571, и их мутантов.

В предпочтительном воплощении изобретения пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, выбран из группы, состоящей из ферментированных молочных продуктов, химически подкисленных молочных продуктов, фруктовых напитков, ферментированных зерновых продуктов, химически подкисленных зерновых продуктов, продуктов на основе соевого молока и любой их смеси. Предпочтительно пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, представляет собой ферментированный молочный продукт, где молоко является молоком млекопитающего.

Ферментированный молочный продукт, как правило, содержит белок на уровне от 2,0% по массе до 3,5% по массе. Ферментированный молочный продукт может также представлять собой низкобелковый продукт с уровнем белка от 1,0% по массе до 2,0% по массе. Альтернативно, ферментированный молочный продукт может представлять собой высокобелковый продукт с уровнем белка выше 3,5% по массе, предпочтительно выше 5,1% по массе. В конкретном воплощении ферментированного молочного продукта по изобретению этот продукт представляет собой смесь ферментированного молочного продукта и зернового продукта, например овсяного продукта, где зерновой продукт может представлять собой ферментированный зерновой продукт, например ферментированный овсяный продукт.

В конкретном воплощении изобретения пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, представляет собой ферментированный зерновой продукт. Ферментированный зерновой продукт может быть получен путем измельчения зерен исходного биологического зернового материала с получением муки из зерновых культур, которую затем подвергают ферментации. Ферментацию зерновой муки можно проводить с использованием тех же самых молочнокислых бактерий (заквасочная культура), которые используют для ферментации молочного субстрата, как описано в других разделах настоящей заявки.

В конкретном воплощении изобретения пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, представляет собой фруктовый напиток. Фруктовые напитки могут дополнительно содержать, например, овес, сою, миндаль, сыворотку и/или неферментированное молоко, например в виде сухого молока. В конкретном воплощении фруктовые напитки по изобретению не содержат молочных компонентов, таких как молоко. В другом конкретном воплощении фруктового напитка по изобретению фруктовый напиток дополнительно содержит ферментированный молочный продукт.

В другом воплощении изобретения пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, представляет собой химически подкисленный продукт. Подкисление может быть проведено с использованием любого подкисляющего агента, подходящего для добавления в пищевые продукты, такого как молочная кислота, лимонная кислота, фруктовый сок, плодовая мякоть и фруктовая смесь. В конкретном воплощении пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, представляет собой молоко, подкисленное фруктовым соком.

В конкретном воплощении изобретения пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, представляет собой химически подкисленный зерновой продукт. Химически подкисленный зерновой продукт может быть получен путем измельчения зерен исходного биологического зернового материала с получением муки из зерновых культур, которую затем используют для получения водной суспензии, и рН указанной суспензии затем доводят до нужного уровня. В конкретном воплощении пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, представляет собой зерновой пищевой продукт, подкисленный фруктовым напитком.

Изобретение охватывает любую комбинацию вышеуказанных элементов, аспектов и воплощений во всех возможных их вариантах, если в данном описании изобретения не указано иное или это явно не противоречит контексту.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В контексте настоящего изобретения термины и выражения, приведенные ниже, имеют следующее значение.

Выражение «термическая обработка» означает любую обработку любой температурой в течение любого периода времени и при помощи любых средств или оборудования, при которой инактивируется по меньшей мере часть бактерий заквасочной культуры. В связи с этим термин «инактивировать» означает любое прекращение, уменьшение или ингибирование роста бактерий, например, лизис клеток.

Выражение «хранение в условиях окружающей среды» означает хранение при температуре окружающей среды. Выражение «температура окружающей среды» означает температуру окружающего воздуха, например, комнатную температуру. Например, температура окружающей среды может быть от 5°C до 40°C, более конкретно от 10°C до 35°C, более конкретно от 15°C до 30°C и наиболее конкретно от 18°C до 27°C. Температура окружающей среды может быть контролируемой, то есть температура остается одинаковой в течение одних целых суток (24 часов), или она может быть неконтролируемой, т.е. она изменяется в течение одних целых суток (24 часов).

Выражение «жизнеспособность» означает, что бактерии способны демонстрировать рост (образовывать колонии) на чашке с MRS-агаром (агар Мана, Рогозы и Шарпа), инкубируемой в анаэробных условиях при 30°C в течение 3 суток. MRS-агар имеет следующий состав (г/л):

пептон: 10,0
экстракт говядины: 10,0
экстракт дрожжей: 5,0
декстроза: 20,0
полисорбат 80: 1,0
цитрат аммония: 2,0
ацетат натрия: 5,0
сульфат магния: 0,1
сульфат марганца: 0,05
дикалийфосфат: 2,0
агар: 15,0

Выражение «штамм молочнокислых бактерий, способный храниться в условиях окружающей среды» означает штамм молочнокислых бактерий, который при добавлении к ферментированному молочному продукту подходит для хранения в условиях окружающей среды в течение некоторого периода времени.

Выражение «молочный продукт, ферментированный с помощью заквасочной культуры» означает ферментированный молочный продукт, который содержит заквасочную культуру, используемую для ферментации молока.

Выражение «термически обработанный ферментированный молочный продукт» означает ферментированный молочный продукт, который был подвергнут термической обработке.

Выражение «ферментированный молочный продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды» означает ферментированный молочный продукт, который подходит для хранения в условиях окружающей среды в течение некоторого периода времени.

Выражение «молочнокислые бактерии» означает грамположительные микроаэрофильные или анаэробные бактерии, которые сбраживают сахара с получением кислот, включая молочную кислоту в качестве преимущественно продуцируемой кислоты, уксусную и пропионовую кислоту. Промышленно наиболее полезные молочнокислые бактерии относятся к отряду «Lactobacillales», который включает *Lactococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Leuconostoc spp.*, *Pseudoleuconostoc spp.*, *Pediococcus spp.*, *Brevibacterium spp.*, *Enterococcus spp.* и

Propionibacterium spp. Их часто используют в качестве пищевых культур отдельно или в комбинации с другими молочнокислыми бактериями.

Молочнокислые бактерии, включая бактерии видов *Lactobacillus sp.* и *Lactococcus sp.*, обычно поставляют для молочной промышленности в виде замороженных или лиофилизированных культур для размножения производственной заквасочной культуры или в виде так называемых культур «для прямого внесения в чан» (Direct Vat Set (DVS)), предназначенных для непосредственной инокуляции в ферментационный сосуд или чан для получения молочного продукта, такого как ферментированный молочный продукт или сыр. Такие культуры молочнокислых бактерий в общем случае называют «заквасочными культурами» или «заквасками».

Термин «молоко» следует понимать как молочную секрецию, получаемую путем доения любого млекопитающего, такого как коровы, овцы, козы, буйволицы или верблюдицы. В предпочтительном воплощении молоко представляет собой коровье молоко. Термин молоко также включает растворы белка/жира, изготовленные из растительных веществ, например, соевое молоко.

Термин «молочный субстрат» может представлять собой любой сырой и/или обработанный молочный материал, который может быть подвергнут ферментации в соответствии со способом по изобретению. Так, полезные молочные субстраты включают, без ограничения, растворы/суспензии любых молочных или молокоподобных продуктов, содержащих белок, таких как цельное молоко или молоко с низким содержанием жира, обезжиренное молоко, пахта, восстановленное молоко, сгущенное молоко, сухое молоко, сыворотка, сывороточный пермеат, лактоза, маточная жидкость от кристаллизации лактозы, концентрат сывороточного белка или сливки. Очевидно, что молочный субстрат может происходить от любого млекопитающего, например, представлять собой по существу чистое молоко млекопитающего или восстановленное сухое молоко.

До ферментации молочный субстрат может быть гомогенизирован и пастеризован в соответствии со способами, известными в данной области техники.

«Гомогенизация», при использовании в данном описании изобретения, означает интенсивное перемешивание с получением растворимой суспензии или эмульсии. Если гомогенизацию осуществляют до ферментации, ее можно выполнить так, чтобы раздробить молочный жир до маленьких размеров, чтобы он больше не отделялся от

молока. Это можно выполнить путем пропускания молока при высоком давлении через небольшие отверстия.

«Пастеризация», при использовании в данном описании изобретения, означает обработку молочного субстрата для уменьшения или устранения присутствия живых организмов, таких как микроорганизмы. Предпочтительно, пастеризации добиваются путем поддержания заданной температуры в течение некоторого периода времени. Заданной температуры обычно достигают посредством нагрева. Температуру и продолжительность можно выбрать так, чтобы убить или инактивировать определенные бактерии, такие как опасные бактерии. Затем может следовать стадия быстрого охлаждения.

«Ферментация» в способах по настоящему изобретению означает превращение углеводов в спирты или кислоты под действием микроорганизма. Предпочтительно, ферментация в способах по изобретению включает превращение лактозы в молочную кислоту.

Способы ферментации для использования в производстве молочных продуктов хорошо известны, и специалист в данной области техники знает, как выбрать подходящие условия способа, такие как температура, кислород, количество и характеристики микроорганизма(ов), и длительность процесса. Очевидно, что условия ферментации выбирают так, чтобы обеспечить выполнение настоящего изобретения, то есть получить молочный продукт в твердом (таком как сыр) или в жидком виде (таком как ферментированный молочный продукт).

В данном контексте термин «мутант» следует понимать как штамм, полученный из штамма по изобретению при помощи, например, геной инженерии, облучения и/или химического воздействия, и/или селекции, адаптации, отбора и т.д. Предпочтительно, мутант является функционально эквивалентным мутантом, например мутантом, который обладает по существу теми же или улучшенными свойствами в отношении пригодности для хранения в условиях окружающей среды, что и родительский штамм. Такой мутант является частью настоящего изобретения. В частности, термин «мутант» относится к штамму, полученному посредством любой обычно используемой мутагенной обработки штамма по изобретению, включающей обработку химическим мутагеном, таким как этанметансульфонат (EMS) или N-метил-N'-нитро-N-нитрогуанидин (NTG), ультрафиолетовый свет, или к спонтанно возникающему мутанту. Мутант может быть подвергнут нескольким мутагенным

обработкам (под одной обработкой следует понимать одну стадию мутагенеза с последующей стадией скрининга/отбора), но в настоящем изобретении предпочтительно, чтобы проводилось не более 20, не более 10 или не более 5 обработок. В предпочтительном в настоящем изобретении мутанте изменено менее 1%, или менее 0,1%, менее 0,01%, менее 0,001% или даже менее 0,0001% нуклеотидов бактериального генома (например, путем замены, вставки, делеции или их комбинации) по сравнению с родительским штаммом.

Предпочтительно, свойством «мутанта» штамма по настоящему изобретению является то, что при добавлении в количестве $1,0 \times 10^7$ КОЕ/г к ферментированному молочному тестируемому продукту в виде йогурта, полученному посредством ферментации с помощью заквасочной культуры, содержащей *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, при температуре 43°C до pH 4,3, который был термически обработан при 75°C в течение 30 секунд, этот штамм способен сохранять жизнеспособность в количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г в конце периода хранения тестируемого продукта, составляющего 120 суток, при температуре 25°C, и где pH снижается не более чем на 0,8 единиц во время периода хранения.

Предпочтительно, «мутант» штамма по настоящему изобретению имеет менее 25, более предпочтительно менее 10, более предпочтительно менее 9, более предпочтительно менее 8, более предпочтительно менее 7, более предпочтительно менее 6, более предпочтительно менее 5, более предпочтительно менее 4, более предпочтительно менее 3, более предпочтительно менее 2 мутаций в аминокислотной последовательности одного или более белков этого штамма. В данном контексте термин «мутация» означает мутацию, выбранную из группы, состоящей из замены, делеции и вставки.

Использование форм единственного числа в контексте описания изобретения (особенно в контексте следующей ниже формулы изобретения) следует понимать как охватывающее и единственное, и множественное число, если в данном описании изобретения не указано иное или это явно не противоречит контексту. Термины «содержащий», «имеющий», «включающий» и «содержащий в себе» следует истолковывать как неограничивающие термины (то есть в значении «включающий, но без ограничения ими»), если не указано иное. Указание диапазонов значений в данном описании изобретения предназначено для сокращенного способа отсылки индивидуально к каждому отдельному значению, попадающему в этот диапазон, если в

данном описании изобретения не указано иное, и каждое отдельное значение включено в данное описание изобретения, как если бы оно было индивидуально указано в данном описании изобретения. Все описанные в данном описании изобретения способы могут быть осуществлены в любом подходящем порядке, если в данном описании изобретения не указано иное или это явно не противоречит контексту. Использование любого или всех примеров, или языка примеров (например выражения «такой как»), представленных в данном описании изобретения, предназначено только для того, чтобы лучше осветить настоящее изобретение, и не является ограничением объема изобретения, если не заявлено иное. Никакое выражение в описании изобретения не следует истолковывать как указание на какой-либо незаявленный элемент как существенный для практического осуществления изобретения.

Выражение «ферментированный молочный продукт» означает пищевой или кормовой продукт, приготовление которого включает ферментацию молочного субстрата с помощью молочнокислых бактерий. «Ферментированный молочный продукт», при использовании в данном описании изобретения, включает, без ограничения, такие продукты, как термофильный ферментированный молочный продукт, например йогурт, мезофильные ферментированные молочные продукты, например сметану и пахту, сыр, а также ферментированную сыворотку.

Термин «термофильный» в данном описании изобретения относится к микроорганизмам, которые лучше всего развиваются при температуре выше 43°C. Промышленно наиболее полезные термофильные бактерии включают *Streptococcus* spp. и *Lactobacillus* spp. Термин «термофильная ферментация» в данном описании изобретения относится к ферментации при температуре выше чем примерно 35°C, такой как от примерно 35°C до примерно 45°C. Термин «термофильный ферментированный молочный продукт» относится к ферментированным молочным продуктам, полученным посредством термофильной ферментации термофильной заквасочной культурой, и включает такие ферментированные молочные продукты, как неперемешиваемый йогурт, йогурт с нарушенным сгустком и питьевой йогурт, например Yakult.

Термин «мезофильный» в данном описании изобретения относится к микроорганизмам, которые лучше всего развиваются при умеренных температурах (15°C-40°C). Промышленно наиболее полезные мезофильные бактерии включают *Lactococcus* spp. и *Leuconostoc* spp. Термин «мезофильная ферментация» в данном

описании изобретения относится к ферментации при температуре от примерно 22°C до примерно 35°C. Термин «мезофильный ферментированный молочный продукт» относится к ферментированным молочным продуктам, полученным посредством мезофильной ферментации мезофильной заквасочной культурой, и включает такие ферментированные молочные продукты как пахта, кисломолочный напиток, сквашенное молоко, сметана, сквашенные сливки, кефир и молодой сыр, такой как творог кварк, творог и сливочный сыр.

Следует понимать, что термин «сыр» охватывает любой сыр, в том числе твердые, полутвердые и мягкие сыры, такие как сыры следующих типов: Коттедж, Фета, Чеддер, Пармезан, Моцарелла, Эмменталь, Данбо, Гауда, Эдам, сыры типа Фета, сыры с голубой плесенью, рассольные сыры, Камамбер и Бри. Специалист в данной области техники знает, как превратить коагулят в сыр, причем способы можно найти в литературе, см., например, Kosikowski, F. V., and V. V. Mistry, "Cheese and Fermented Milk Foods", 1997, 3rd Ed. F. V. Kosikowski, L. L. C. Westport, CT. При использовании в данном описании изобретения сыр, который имеет концентрацию NaCl ниже 1,7% (масс./масс.), упоминается как «сыр с низким содержанием соли».

В настоящем контексте термин «фруктовый сок» относится к жидкости, естественно содержащейся во фруктах, полученной посредством механического отжима или измельчения свежих фруктов без нагрева и растворителей. «Фруктовый сок» может состоять из сока одного типа фруктов или смеси из более чем одного типа фруктов.

Термин «фруктовый напиток» в данном контексте относится к напитку с содержанием фруктового сока от 0 до 29%.

Термин «нектар» в данном контексте относится к напитку с содержанием фруктового сока от 30 до 99%.

В данном контексте термин «пюре» относится к фруктам, приготовленным посредством измельчения, прессования и/или процеживания с получением консистенции вязкой жидкости или мягкой пасты без термической обработки и растворителей. «Пюре» изготавливают из 100% фруктов, в отличие от изготовления из чистого сока фруктов.

В данном контексте термин «фруктовый напиток» относится к напитку, содержащему фруктовый сок, фруктовый концентрат и/или фруктовое пюре. Термин «фруктовый напиток» охватывает «фруктовый сок», «морс» и «нектар», как определено

в данном описании изобретения. «Фруктовый напиток» может представлять собой напиток, содержащий мякоть, или напиток, из которого мякоть удалена с помощью такой операции, как центрифугирование.

Термин «асептическое добавление» означает отсутствие введения или минимальное введение каких-либо микроорганизмов, отличных от молочнокислых бактерий, способных храниться в условиях окружающей среды.

Термин «зерновой продукт» означает любой продукт, полученный из злакового или зернового биологического источника, включающего овес, кукурузу, ячмень, рожь, гречку, пшеницу и рис.

Термин «лактозодефицитный» используют в контексте настоящего изобретения для характеристики молочнокислых бактерий (LAB), которые либо частично, либо полностью утратили способность использовать лактозу в качестве источника для клеточного роста или поддержания жизнеспособности клеток. Такие LAB способны метаболизировать один или несколько углеводов, выбранных из сахарозы, галактозы и/или глюкозы, или другого сбраживаемого углевода. Поскольку эти углеводы естественным образом не присутствуют в молоке в количествах, достаточных для поддержания ферментации лактозодефицитными мутантами, будет необходимо добавлять эти углеводы в молоко. Лактозодефицитные и частично дефицитные LAB могут быть охарактеризованы как белые колонии на среде, содержащей лактозу и X-Gal.

Термин «цитрат-отрицательные» штаммы означает штаммы, образующие белые колонии на агаровой среде Кемплера-Маккея, тогда как цитрат-положительные штаммы образуют темно-синие колонии на указанной среде, где среда Кемплера-Маккея определена в публикации «Improved medium for detection of citrate-fermenting *Streptococcus lactis* subsp. diacetylactis», G.M. Kempler and L.L. McKay, Applied and Environmental Microbiology, Apr. 1980, p 926-927, Vol. 39, No. 4. Среда Кемплера-Маккея имеет следующий состав:

1 % (масс./об.) обезжиренного молока

0,25% молочный белок-гидролизат пептона

0,5% декстроза

1,5% агар

Способ приготовления:

После стерилизации среды в течение 12 минут при 10 фунтов/кв.дюйм ее выдерживали при 45°C. Два раствора, один из которых содержал 10% феррицианида калия, а другой содержал 1 г цитрата железа и 1 г цитрата натрия в 40 мл воды, пропаривали (100°C) в течение 30 мин. Десять миллилитров каждого раствора добавляли к 1 литру агаровой среды и этот агар осторожно перемешивали и заливали. Чашки сушили в темноте в течение 24 ч при 30°C.

Оба выражения «X.Xx10expYY» и «X.XEYY» означают X.Xx10^{YY}, и эти два указанных выражения используют взаимозаменяемо.

Термин «КОЕ» означает колониеобразующие единицы.

КОНКРЕТНЫЕ АСПЕКТЫ ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Штамм молочнокислых бактерий, способный храниться в условиях окружающей среды, который при добавлении в количестве 1,0x10exp07 КОЕ/г к ферментированному молочному тестируемому продукту в виде йогурта, полученному посредством ферментации с помощью заквасочной культуры, содержащей *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, при температуре 43°C до pH 4,3, который был термически обработан при 75°C в течение 30 секунд, способен сохранять жизнеспособность в количестве по меньшей мере 1,0X10exp03 КОЕ/г в конце периода хранения тестируемого продукта, составляющего 120 суток, при температуре 25°C, и где pH снижается не более чем на 0,8 единиц во время периода хранения, и где штамм выбран из группы, состоящей из штаммов рода *Oenococcus* и их мутантов.

2. Штамм согласно аспекту 1, который способен сохранять жизнеспособность в количестве по меньшей мере 1,0X10exp03 КОЕ/г, предпочтительно по меньшей мере 5,0X10exp03 КОЕ/г, более предпочтительно по меньшей мере 1,0X10exp04 КОЕ/г, более предпочтительно по меньшей мере 5,0X10exp04 КОЕ/г и наиболее предпочтительно по меньшей мере 1,0X10exp05 КОЕ/г в конце периода хранения.

3. Штамм согласно аспекту 1 или 2, где pH снижается не более чем на 0,7, предпочтительно на 0,6, предпочтительно на 0,5, предпочтительно на 0,4, предпочтительно на 0,3 и наиболее предпочтительно на 0,2 во время периода хранения.

4. Штамм по любому из аспектов 1-3, который при добавлении в количестве 1,0x10exp07 КОЕ/г к тестируемому продукту увеличивает количество клеток до по меньшей мере 5,0x10exp07 КОЕ/г, предпочтительно 7,5x10exp07 КОЕ/г и наиболее предпочтительно 1,0x10exp08 КОЕ/г.

5. Штамм согласно аспекту 4, где увеличение количества клеток происходит в пределах 45 суток после добавления штамма к тестируемому продукту, предпочтительно в пределах 40 суток, предпочтительно в пределах 35 суток, предпочтительно в пределах 30 суток, предпочтительно в пределах 25 суток, предпочтительно в пределах 20 суток и наиболее предпочтительно в пределах 15 суток.

6. Штамм согласно аспекту 4 или 5, где количество клеток достигает максимума в пределах 45 суток после добавления штамма к тестируемому продукту, предпочтительно в пределах 40 суток, предпочтительно в пределах 35 суток, предпочтительно в пределах 30 суток, предпочтительно в пределах 25 суток, предпочтительно в пределах 20 суток и наиболее предпочтительно в пределах 15 суток.

7. Композиция, содержащая один или более штаммов молочнокислых бактерий, способных храниться в условиях окружающей среды, по любому из аспектов 1-6.

8. Пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, имеющий рН от 3,4 до 4,4, который содержит по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г штамма, способного храниться в условиях окружающей среды, согласно аспекту 1.

9. Пищевой продукт согласно аспекту 8, представляющий собой химически подкисленный продукт.

10. Пищевой продукт согласно аспекту 8, представляющий собой ферментированный молочный продукт, полученный посредством ферментации молочного субстрата с использованием заквасочной культуры молочнокислых бактерий, где продукт содержит не более 1×10^2 КОЕ заквасочной культуры/г и по меньшей мере 1×10^3 КОЕ/г штаммов, способных храниться в условиях окружающей среды, согласно аспекту 1.

11. Пищевой продукт согласно аспекту 8, который представляет собой ферментированный молочный продукт, полученный посредством ферментации молочного субстрата с использованием заквасочной культуры молочнокислых бактерий, где ферментированный молочный продукт после ферментации был подвергнут термической обработке для уменьшения уровня бактерий заквасочной культуры до не более чем 1×10^2 КОЕ/г, и где после тепловой обработки штамм, способный храниться в условиях окружающей среды, согласно аспекту 1 был асептически добавлен к термически обработанному продукту в количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г.

12. Способ получения пищевого продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды, включающий предоставление пищевого продукта, имеющего рН от 3,4 до 4,4, термическую обработку этого пищевого продукта для уменьшения уровня бактерий до не более чем 1×10^2 КОЕ/г с получением термически обработанного пищевого продукта, и асептическое добавление к термически обработанному пищевому продукту одного или более штаммов молочнокислых бактерий, способных храниться в условиях окружающей среды, согласно аспекту 1 в общем количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г с получением пищевого продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды.

13. Способ получения ферментированного молочного продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды, включающий ферментацию молочного субстрата с использованием заквасочной культуры молочнокислых бактерий с получением ферментированного заквасочной культурой молочного продукта, термическую обработку ферментированного заквасочной культурой молочного продукта для уменьшения уровня бактерий заквасочной культуры до не более чем 1×10^2 КОЕ/г с получением термически обработанного ферментированного молочного продукта, и асептическое добавление к термически обработанному ферментированному молочному продукту одного или более штаммов молочнокислых бактерий, способных храниться в условиях окружающей среды, согласно аспекту 1 в общем количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г с получением ферментированного молочного продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды.

14. Применение штамма молочнокислых бактерий, способного храниться в условиях окружающей среды, согласно аспекту 1 для асептического добавления к термически обработанному пищевому продукту в общем количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г, где термически обработанный пищевой продукт имеет рН от 3,4 до 4,4 и был подвергнут термической обработке для уменьшения уровня бактерий заквасочной культуры до не более чем 1×10^2 КОЕ/г.

15. Штамм молочнокислых бактерий, который выбран из группы, состоящей из штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33144, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33145, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33146, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33147, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 14498, и их мутантов.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Тестирование в отношении пригодности для хранения в условиях окружающей среды шести штаммов *Oenococcus oeni* в пастеризованном йогурте (РРУ)

Таблица 1: Состав молочного субстрата

Ингредиент	Спецификация	Содержание (%)
Свежее молоко	Цельное молоко 3,5% жира	74,3
Добавленный углевод	Сахароза	7,00
Сывороточный белок Концентрат WPC 80	Nutrilac YO-7830, Arla Food Ingredients	0,60
Модифицированный крахмал	Clearam CJ5025, Roquette	1,5
Пектин	LM-106 AS-YA, CP Kelco	0,12
Геллановая камедь	Kelcogel YSS, CP Kelco	0,03
Вода	Вода	16,45

Состав конечного пастеризованного йогурта:

жир: 2,6 %

белок: 3,0 %

углеводы: 11,4 %

Заквасочная культура: имеющаяся в продаже заквасочная культура YoFlex® типа FD-DVS YF-L904. Эту заквасочную культуру инокулировали в молочную основу в количестве 500 Ед/2500 л молока.

Штаммы, способные храниться в условиях окружающей среды: было протестировано шесть коммерческих штаммов *Oenococcus oeni*. Каждый штамм инокулировали в пастеризованный йогурт в количестве 1×10^7 КОЕ/г.

Тестируемый штамм 1: DSM33146

Тестируемый штамм 2: DSM33147

Тестируемый штамм 3: DSM15570

Тестируемый штамм 4: DSM33144

Тестируемый штамм 5: DSM33145

Тестируемый штамм 6: DSM14498

Методика приготовления тестируемого продукта

1. Диспергирование сухих ингредиентов в молоке

2. Выстаивание в течение минимум 2 часов при 10°C с легким перемешиванием

3. Нагревание молока до достижения температуры 65°C
4. Гомогенизация при 150 бар
5. Термическая обработка до 95°C в течение 5 мин.
6. Охлаждение до температуры ферментации 43°C
7. Закачивание молока в чан для ферментации
8. Инокуляция культуры YoFlex типа FD-DVS YF-L904.
9. Ферментация до достижения pH 4,3.
10. Разбивка сгустка и перемешивание до получения гладкой структуры.
11. Термическая обработка при 75°C в течение 30 сек.
12. Последующая обработка при 2 бар
13. Охлаждение до 25°C
14. Асептическое внесение в 100 мл стерильные контейнеры

Процедура тестирования штаммов, способных храниться в условиях окружающей среды

15. Инокуляция штаммов и культур
16. Хранение в течение 120 суток при комнатной температуре 23°C

Измерение pH

Калибровка pH-электрода стандартными буферными растворами pH 4,01; pH 7,00 и pH 9,21 с температурной компенсацией. Образцы измеряют при одной и той же температуре, в данном случае при комнатной температуре (23°C). Отображаемое измерение должно иметь стабильный сигнал в течение не менее 30 с, после чего значение записывают. Между измерениями образцов электрод промывают деионизированной водой и тщательно протирают мягкой бумажной салфеткой.

pH измеряют на сутки +0 и сутки +1, а затем проводят ежемесячные измерения вплоть до суток +120.

Метод подсчета клеток

Популяцию клеток контролируют путем подсчета колоний на чашках (КОЕ/г), где культивирование проводят на средах Де Мана, Рогозы и Шарпа (MRS) с доведенным pH до значения 5,4. Инкубируют образцы при 30°C в течение 10 суток в анаэробных условиях. На среде MRS колонии выглядят как маленькие, круглые и светлые колонии.

Число клеток анализируют на сутки +0 и сутки +1 с последующими ежемесячными измерениями вплоть до суток +120.

Среда MRS

MRS-агар имеет следующий состав (г/л):

пептон: 10,0

экстракт говядины: 10,0

экстракт дрожжей: 5,0

декстроза: 20,0

полисорбат 80: 1,0

цитрат аммония: 2,0

ацетат натрия: 5,0

сульфат магния: 0,1

сульфат марганца: 0,05

дикалийфосфат: 2,0

агар: 15,0

Результаты

Таблица 2: pH

Тестируемый штамм	Сутки 0	Сутки 1	Сутки 30	Сутки 60	Сутки 90	Сутки 120
1	4,29	4,30	4,25	4,22	4,22	4,19
2	4,29	4,30	4,27	4,24	4,22	4,22
3	4,29	4,30	4,19	4,14	4,13	4,09
4	4,29	4,30	4,30	4,30	4,29	4,32
5	4,29	4,31	4,29	4,22	4,20	4,20
6	4,29	4,30	4,30	4,23	4,20	4,20

Таблица 3: Подсчет клеток

Тестируемый штамм	Сутки 0	Сутки 1	Сутки 30	Сутки 60	Сутки 90	Сутки 120
1	6,60E06	7,90E06	2,00E08	1,20E08	4,70E07	5,30E07
2	7,20E06	6,10E06	1,60E05	4,32E07	5,50E07	4,70E07
3	7,80E06	7,90E06	<1,00E04	2,56E07	5,20E07	6,50E07

4	4,60E06	4,50E06	<1,00E04	1,44E07	2,70E07	4,60E07
5	1,55E07	1,80E07	2,00E08	2,20E08	1,10E08	1,01E08
6	7,20E06	1,17E07	1,35E08	1,90E08	1,70E08	8,90E07

Как видно из Таблицы 2, для пяти из шести протестированных штаммов уровень последующего закисления составляет ниже 0,10 единиц рН в течение периода хранения 120 суток при 25°C, тогда как для шестого протестированного штамма уровень последующего закисления составляет ниже 0,20 единиц рН. Таким образом, все шесть протестированных штаммов *Oenococcus oeni* вызывают исключительно низкий уровень последующего закисления.

Как видно из Таблицы 3, для всех шести протестированных штаммов число клеток после 120 суток хранения выше, чем в момент инокуляции на сутки 0. Полагают, что причина этого заключается в том, что тестируемые культуры *Oenococcus oeni* имели определенный уровень роста во время периода хранения. Если это так, максимум, к чему привел указанный рост, это чрезвычайное малое снижение рН.

Пример 2: Тестирование штаммов *Oenococcus oeni* в отношении роста на различных источниках углеводов

Коммерческий тест под названием «Api 50 CHL Medium» от компании bioMérieux SA использовали для проверки способности следующих штаммов *Oenococcus* по изобретению расти на галактозе, глюкозе, фруктозе и лактозе:

Тестируемый штамм 2: DSM33147

Тестируемый штамм 3: DSM15570

Тестируемый штамм 5: DSM33145

Процедура тестирования перед переносом на тест-полоску API:

- штаммы заказывали из коллекции культур (из хранения при -80C) и высевали штрихами на чашки с агаром GJ5;
- чашки инкубировали в анаэробных условиях при 30°C в течение 7 суток;
- после выращивания чашки проверяют на чистоту колоний;
- затем на чашки с агаром пипеткой наносят 2 мл среды API CHL;
- стерильным шпателем колонии соскабливают с агара и концентрированную бактериальную взвесь переносят в большее количество среды API CHL.

Процедура тестирования на тест-полоске API:

- из этих концентрированных растворов около 100 мкл вносят пипеткой в лунки

теста API;

- поверх лунки наносят парафиновое масло для создания барьера и анаэробнозиса;
- полоски API инкубируют при 25°C;
- результаты считывают, регистрируя изменение окраски лунок на сутки 1 и 4.

Таблица 4: Рост на различных углеводах

Образец	Тестируемый штамм 3				Тестируемый штамм 2				Тестируемый штамм 5			
	1		2		1		2		1		2	
	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4
Отрицательный контроль	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Галактоза	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
Глюкоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Фруктоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-лактоза	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-

ДЕПОНИРОВАНИЕ И ЭКСПЕРТНОЕ РЕШЕНИЕ

Заявитель испрашивает, чтобы образец депонированного микроорганизма был доступен только эксперту, одобренному заявителем, вплоть до даты выдачи патента. В частности, заявитель испрашивает, чтобы доступность депонированного микроорганизма, на которую дается ссылка в Правиле 33 ЕРС, осуществлялась только посредством выдачи образца независимому эксперту, назначенному подателем запроса (Правило 32(1) ЕРС).

Таблица 5: Депонирования, сделанные заявителем CHR. HANSEN A/S в депозитарном учреждении, получившем статус Международного депозитарного органа, согласно Будапештскому соглашению по международному признанию депонирования микроорганизмов в целях патентной процедуры: *Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures* Inhoffenstr. 7B, 38124 Braunschweig, Germany.

Штамм	№. доступа	Дата депонирования
<i>Oenococcus oeni</i>	DSM 33144	2019.05.28
<i>Oenococcus oeni</i>	DSM 33145	2019.05.28
<i>Oenococcus oeni</i>	DSM 33146	2019.05.28
<i>Oenococcus oeni</i>	DSM 33147	2019.05.28

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения пищевого продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды, включающий:

- предоставление пищевого продукта, имеющего рН от 3,4 до 4,4,
- термическую обработку этого пищевого продукта для уменьшения уровня бактерий до не более чем 1×10^2 КОЕ/г с получением термически обработанного пищевого продукта,

- асептическое добавление к этому термически обработанному пищевому продукту одного или более штаммов молочнокислых бактерий, способных храниться при температуре окружающей среды, в общем количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г с получением пищевого продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды, и

- хранение пищевого продукта, пригодного для хранения в условиях окружающей среды, при температуре окружающей среды в течение некоторого периода времени,

где штамм молочнокислых бактерий, способный храниться в условиях окружающей среды, выбран из группы, состоящей из штаммов,

(1) где штамм при добавлении в количестве $1,0 \times 10^7$ КОЕ/г к ферментированному молочному тестируемому продукту в виде йогурта, полученному посредством ферментации с помощью заквасочной культуры, содержащей *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, при температуре 43°C до рН 4,3, который был термически обработан при 75°C в течение 30 секунд, способен сохранять жизнеспособность в количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г в конце периода хранения тестируемого продукта, составляющего 120 суток, при температуре 25°C , и

(2) где рН тестируемого продукта снижается не более чем на 0,8 единиц во время периода хранения, и

(3) где штамм выбран из группы, состоящей из штаммов рода *Oenococcus* и их мутантов.

2. Способ по п. 1, где штамм молочнокислых бактерий, способный храниться в условиях окружающей среды, способен сохранять жизнеспособность в количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г, предпочтительно по меньшей мере

5,0X10^{exp03} КОЕ/г, более предпочтительно по меньшей мере 1,0X10^{exp04} КОЕ/г, более предпочтительно по меньшей мере 5,0X10^{exp04} КОЕ/г и наиболее предпочтительно по меньшей мере 1,0X10^{exp05} КОЕ/г в конце периода хранения тестируемого продукта, составляющего 120 суток.

3. Способ по п. 1 или 2, где рН снижается не более чем на 0,7, предпочтительно на 0,6, предпочтительно на 0,5, предпочтительно на 0,4, предпочтительно на 0,3 и наиболее предпочтительно на 0,2 во время периода хранения тестируемого продукта, составляющего 120 суток.

4. Способ по любому из пп. 1-3, где штамм при добавлении в количестве 1,0x10^{exp07} КОЕ/г к тестируемому продукту увеличивает количество клеток до по меньшей мере 5,0x10^{exp07} КОЕ/г, предпочтительно до 7,5x10^{exp07} КОЕ/г и наиболее предпочтительно до 1,0x10^{exp08} КОЕ/г.

5. Способ по п. 4, где увеличение количества клеток происходит в пределах 45 суток после добавления штамма к тестируемому продукту, предпочтительно в пределах 40 суток, предпочтительно в пределах 35 суток, предпочтительно в пределах 30 суток, предпочтительно в пределах 25 суток, предпочтительно в пределах 20 суток и наиболее предпочтительно в пределах 15 суток.

6. Способ по п. 4 или 5, где количество клеток достигает максимума в пределах 45 суток после добавления штамма к тестируемому продукту, предпочтительно в пределах 40 суток, предпочтительно в пределах 35 суток, предпочтительно в пределах 30 суток, предпочтительно в пределах 25 суток, предпочтительно в пределах 20 суток и наиболее предпочтительно в пределах 15 суток.

7. Способ по любому из пп. 1-6, где пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, хранят при температуре окружающей среды в течение периода по меньшей мере одни сутки, предпочтительно по меньшей мере 2 суток, более предпочтительно по меньшей мере 3 суток, более предпочтительно по меньшей мере 4 суток, более предпочтительно по меньшей мере 5 суток, более предпочтительно по меньшей мере 6 суток, более предпочтительно по меньшей мере 7 суток, более предпочтительно по меньшей мере 8 суток, более предпочтительно по меньшей мере 9 суток и наиболее предпочтительно по меньшей мере 10 суток.

8. Способ по любому из пп. 1-7, где штамм *Oenococcus* выбран из группы, состоящей из *Oenococcus oeni*, *Oenococcus kitaharae*, *Oenococcus sicera* и их мутантов.

9. Способ по п. 8, где штамм *Oenococcus* выбран из группы, состоящей из *Oenococcus oeni* и его мутантов.

10. Способ по п. 9, где штамм *Oenococcus* выбран из группы, состоящей из штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33144, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33145, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33146, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33147, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 14498, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 15568, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 15569, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 15570, и штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 15571, и их мутантов.

11. Способ по любому из пп. 1-10, где пищевой продукт, имеющий рН от 3,4 до 4,4, представляет собой ферментированный с помощью заквасочной культуры молочный продукт, полученный посредством ферментации молочного субстрата с использованием заквасочной культуры молочнокислых бактерий с получением ферментированного с помощью заквасочной культуры молочного продукта.

12. Способ по любому из пп. 1-11, где ферментированный с помощью заквасочной культуры молочный продукт имеет содержание белка более 5,1% масс./масс.

13. Способ по любому из пп. 1-12, где ферментированный с помощью заквасочной культуры молочный продукт не подвергают разбавлению.

14. Пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, содержащий штаммы молочнокислых бактерий, способных храниться в условиях окружающей среды, где продукт имеет рН от 3,4 до 4,4, где продукт содержит по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г штамма, где пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, хранят при температуре окружающей среды в течение некоторого периода времени, и

где штамм молочнокислых бактерий, способный храниться в условиях окружающей среды, выбран из группы, состоящей из штаммов,

(1) где штамм при добавлении в количестве $1,0 \times 10^7$ КОЕ/г к ферментированному молочному тестируемому продукту в виде йогурта, полученному посредством ферментации с помощью заквасочной культуры, содержащей *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, при температуре 43°C до рН 4,3, который был термически обработан при 75°C в течение 30 секунд, способен

сохранять жизнеспособность в количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г в конце периода хранения тестируемого продукта, составляющего 120 суток, при температуре 25°C, и

(2) где рН тестируемого продукта снижается не более чем на 0,8 единиц во время периода хранения, и

(3) где штамм выбран из группы, состоящей из штаммов рода *Oenococcus* и их мутантов.

15. Пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, по п. 14, где продукт представляет собой химически подкисленный продукт.

16. Пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, по п. 14, где продукт представляет собой ферментированный молочный продукт, полученный посредством ферментации молочного субстрата с использованием заквасочной культуры молочнокислых бактерий, где продукт содержит не более 1×10^2 КОЕ заквасочной культуры/г и по меньшей мере 1×10^3 КОЕ/г штамма молочнокислых бактерий, способного храниться в условиях окружающей среды.

17. Пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, по п. 14, где продукт представляет собой ферментированный молочный продукт, полученный посредством ферментации молочного субстрата с использованием заквасочной культуры молочнокислых бактерий, где ферментированный молочный продукт после ферментации был подвергнут термической обработке для уменьшения уровня бактерий заквасочной культуры до не более чем 1×10^2 КОЕ/г, и где после термической обработки штамм, способный храниться в условиях окружающей среды, по п. 1 был асептически добавлен к термически обработанному продукту в количестве по меньшей мере $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г.

18. Пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, по любому из пп. 14-17, где штамм *Oenococcus* выбран из группы, состоящей из *Oenococcus oeni*, *Oenococcus kitaharae*, *Oenococcus sicera* и их мутантов.

19. Пищевой продукт, пригодный для хранения в условиях окружающей среды, по любому из пп. 14-17, где штамм выбран из группы, состоящей из штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33144, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33145, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM

33146, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 33147, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 14498, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 15568, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 15569, штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 15570, и штамма *Oenococcus oeni*, депонированного как DSM 15571, и их мутантов.