



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **68320** (13) **U**
(51) МПК (2012.01)
C12N 13/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2011 09633	(72) Винахідник(и):	Бурдо Олег Григорович (UA), Рибіна Ольга Борисівна (UA), Терземан Олена Федорівна (UA), Дідух Геннадій Васильович (UA)
(22) Дата подання заявки:	02.08.2011		
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	26.03.2012	(73) Власник(и):	ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	26.03.2012, Бюл.№ 6		

(54) СПОСІБ ЗМІНЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВОСТІ МІКРООРГАНІЗМІВ

(57) Реферат:

Спосіб змінення біологічної активності мікроорганізмів, при якому гриб *Cordyceps chinensis* оброблюють електромагнітним полем з довжиною хвилі 0,122 м та питомою потужністю поля 60-80 Вт/кг до підвищення їх температури до 29-30 °С.

UA 68320 U

Корисна модель належить до харчової промисловості, медицини та фармакології.

У основу виготовлення великої кількості молочних продуктів закладені процеси глибокого розпаду молочного цукру під дією мікроорганізмів, що називаються бродінням.

Початковим етапом всіх типів бродіння є розщеплення молочного цукру на глюкозу та галактозу під впливом ферменту лактази. Далі бродінню підлягає глюкоза. Галактоза проходить ряд перетворень під дією ферментів, а потім також надходить до схеми перетворення глюкози.

Молочнокисле бродіння є головним процесом при виготовленні заквасок, сиру та кисломолочних продуктів, а молочнокислі бактерії - найбільш важлива група мікроорганізмів для молочної промисловості. В процесі молочнокислого бродіння разом з молочною кислотою утворюються і побічні продукти бродіння.

В результаті кількості науково-дослідних робіт було розроблено резервуарний спосіб виробництва кефіру, що являється на наступний час загальноновизнаним і широко впровадженим в молочній промисловості.

Технологічний процес виробництва кефіру резервуарним методом складається з наступних операцій: приймання і підготовки сировини, нормалізації, гомогенізації, пастеризації і охолодження, заквашування, сквашування в спеціальних ємностях, охолодження згустку, дозрівання згустку, фасування.

Кефір резервуарним методом виробляють з незбираного натурального нормалізованого молока не нижче другого сорту, кислотністю не більш 19°Т, густиною не менш ніж 1,0278 кг/м³, з різною масовою часткою жиру, тому вихідне молоко нормалізують до потрібної масової частки жиру.

Пастеризація молока виконується з метою знищення вегетативних форм мікрофлори, в тому числі патогенних. Найбільш розповсюджений спосіб у виробництві кисломолочних продуктів - короткочасна пастеризація при температурі 85-87 °С з витримкою протягом 5-10 хв. або при 90-92 °С з витримкою 2-3 хв. з наступним охолодженням до температури заквашування. Режим пастеризації повинен забезпечувати отримання заданих властивостей готового продукту, а саме органолептичних показників (смак, потрібні в'язкість та густина згустку). Високі температури пастеризації викликають денатурацію сироваткових білків, при цьому підвищуються гідратаційні властивості казеїну. Це сприяє утворенню більш густого згустку, який добре утримує вологу, що перешкоджає відділенню сироватки при зберіганні.

При виробництві кефіру звичайно застосовують закваску, виготовлену на кефірних грибах. Основними представниками їх є молочнокислі палички, молочнокислі стрептококи, в тому числі ароматоутворюючі та молочні дріжджі типу *Togula*. Випадкова мікрофлора зерен складається з спорових паличок, оцетокислих бактерій, молочних цвілей, плівчастих дріжджів, бактерій групи *Coli* та інших.

Для виготовлення кефірної закваски сухі кефірні зерна витримують в теплій воді (25-30 °С) протягом доби, замінюючи її за цей час 2-3 рази. Після цього воду зливають і набряклі зерна заливають теплим молоком, що взяте в десятикратній кількості по відношенню до об'єму грибків.

Для вироблення кефіру з характерним смаком та міцною консистенцією необхідно використовувати виробничу закваску, що витримана після сквашування при температурі 10-12 °С протягом 12-24 годин. Закваску, маса якої звичайно складає 5 % маси суміші, що заквашується, вносять у суміш, що охолоджена до температури заквашування. Суміш сквашують при температурі 23-25 °С до утворення молочно-білкового згустку кислотністю 80-100°Т (рН 4,5-4,65). Протягом сквашування відбувається розмноження мікрофлори закваски, наростає кислотність, коагулює казеїн та утворюється згусток.

Після сквашування кефір перемішують та охолоджують до температури дозрівання. Перемішування продукту починають через 60-90 хв. після початку терміну його охолодження і проводять протягом 10-30 хв. Перемішаний і охолоджений до температури 20 °С згусток залишають у спокої.

Тривалість дозрівання кефіру складає 6-10 годин. Під час дозрівання активізуються дріжджі, відбувається спиртове бродіння, в результаті чого у продукті утворюються спирт, діоксид вуглецю та інші речовини, що надають цьому продуктові специфічні властивості.

У відповідності з вимогами РТУ кефір повинен задовольняти наступним вимогам

Кефір	Кислотність у°Т	Вміст спирту у %, не більш
Для масового споживання	80-120	0,6
Лікувальний:		
слабкий	80-90	0,2
середній	80-105	0,4
міцний	90-120	0,6

Смак та запах - чистий, кисломолочний, освіжаючий. Консистенція кефіру повинна бути однорідною, що згадує рідку сметану. Припускається газоутворення, що викликане дріжджами або ароматоутворюючими стрептококами.

Відомий вплив електромагнітного опромінення на біологічні об'єкти, зокрема на мікроорганізми та грибки.

Відомий спосіб впливу на мікроорганізми хвильовою інформацією, що записана на носії, яка включає інформацію про пригнічення мета-стабільної активності клітин патогенного мікроорганізму, ушкоджених до стану, при якому відновлення активності клітин в повному обсязі стає неможливим, а також інформацію про нормальний стан клітин та мікробної флори органу організму, який є об'єктом колонізації патогенного мікроорганізму (патент РФ № 2158147, 2000г., МПК (7) А 61N 5/00, А 61 М 37/00). Для запису інформації використовується електромагнітне опромінення у діапазоні КХЧ, СХЧ, ІЧ та видимого світла при безпосередньому контакті носія з кожним біологічним об'єктом. Пригнічення активності клітин патогенного мікроорганізму може бути виконано шляхом інформаційно-енергетичного впливу.

Подібним чином, за допомогою записаного поляризованого електромагнітного опромінення з довжиною хвилі від 3 до 10 мкм використовують для опромінення патогенних мікроорганізмів та їх інактивації в організмі людини (патент РФ № 2199356, 2003г., МПК (7) А61N5/00, А61N39/00, а 61 М 37/00, С12N13/00).

Але для здійснення цих методів необхідно використовувати складне апаратне оформлення.

Для впливу на життєдіяльність мікроорганізмів використовують малоінтенсивну звукову дію у вигляді музикально-акустичних тест-програм (патент РФ № 2195493, 2002г., МПК (7) С12N13/00).

Вплив музикально-акустичних тест-програм носить малокерований характер, тому що застосовано на використовуванні сигналів з широкою смугою частот, окремі з яких гіпотетично можуть співпадати з резонансними частотами різних клітин.

Існують роботи щодо визначення впливу на живі організми монохроматичних електромагнітних опромінь міліметрового діапазону хвиль нетеплової інтенсивності. Встановлено, що вплив електромагнітного опромінення має ефект лише у двох планах: воно або прискорює відновлення організму після порушень, які мали місце, або прискорює тренування та адаптацію до умов існування, які змінилися (на поточне функціонування здорового організму і тим більш на зміну неживих тканин електромагнітне опромінення впливу практично не робить). Зокрема, після семиразового (щодобового з терміном експозиції 2 хвилини) опромінення електромагнітним опроміненням з довжиною хвилі близько 6 мм (частота дорівнює приблизно 60 ГГц) дріжджоподібного гриба ендомікопсис, спостерігалось збільшення культури на 50 %. Аналогічні результати були отримані і для пивоварених дріжджів: опромінення електромагнітним опроміненням з довжиною хвилі близько 6 мм нетеплового рівню потужності призводило до збільшення у порівнянні з контрольним (не опроміненим) зразком бродильної активності дріжджів в 1,2-1,5 рази. Для інших біологічних об'єктів опромінення може призводити до більш яскраво виражених результатів. Наприклад, після десятиразового (щодобового з терміном експозиції 2 години) опромінення електромагнітним опроміненням з довжиною хвилі 6,4 мм суспензії спорового гриба аспергилла спостерігалось збільшення активності культури в 2-2,5 рази. Практично у всіх дослідженнях ефект впливу носив резонансний характер (в області довжин хвиль 6,0-7,1 мм) і проявлявся в зміні інтенсивності і характеру життєвих процесів. Резонансний характер впливу полягав в тому, що опромінення одною довжиною хвилі призводить до іншого результату, ніж дія опромінення з іншою довжиною хвилі, навіть досить близькою.

Для здійснення цього способу необхідно використовувати складне апаратне оформлення, тому що цей діапазон частот мало освоєний. Крім того, хвилі таких частот сильно поглинаються водою, що складає основну частину мікроорганізмів, що призводить до нагрівання та спотворення картини зростання мікроорганізмів.

Найбільш близьким до заявлюваної корисної моделі є спосіб зміни біологічної активності мікроорганізмів, в якому пропонується впливати на мікроорганізми протягом 5-60 хвилин опроміненням магнітостатичної хвилі (МСХ), що збуджується при напруженості магнітного поля в інтервалі від $1,592 \cdot 10^4$ до $1,592 \cdot 10^5$ А/м з частотою від 2 до 8 ГГц та потужністю від 1 до 100 мкВт (патент РФ № 2287014, 2006г., МПК (51), C12N13/00, G01N22/00, G01N33/48, C12N1/00). Для здійснення способу використовувалася установка, що складалася з: панорамного вимірювача КСВН та послаблення, у складі - генератора частоти, що коливається та індикатора, спрямованого рефлектометра, МСХ-осередка, датчика минулої хвилі, електромагніту, амперметра, джерела стабілізованого струму, датчика Холла, вимірювача магнітної індукції, пробірки з дріжджами.

Працює установка наступним чином.

Амплітудно-модульний НВЧ-сигнал з генератора частоти, що коливається, подається на спрямований рефлектор, де приблизно 0,01 частина падаючої високочастотної потужності відгалужується і детектується. Продетектований сигнал поступає на вхід індикатора. Основна частина падаючої високочастотної потужності подається на МСХ-осередок, що знаходиться в постійному магнітному полі, що створюється електромагнітом. Сигнал з входу МСХ-осередка подається на датчик минулої хвилі, детектується і подається на вхід індикатора. Обидва продетектованих сигнали (з виходів спрямованого рефлектометра і датчика минулої хвилі) в індикаторі порівнюються. В результаті обробки на екрані електронно-променевої трубки індикатора відображається інформація про величину послаблення, що вноситься МСХ-осередком.

Електромагніт створює постійне магнітне поле зміщення на МСХ-осередку. Він підживлюється від стабілізованого джерела струму. Величина сили струму в електромагніті контролюється за допомогою амперметра. Силу струму в електромагніті і, відповідно, напруженість постійного магнітного поля зміщення змінюють, перемикаючи стабілізоване джерело струму. В даній установці напруженість постійного магнітного поля зміщення в діапазоні від $2,1492 \cdot 10^4$ до $1,79896 \cdot 10^5$ А/м. Величина створюваного поля підмагнічення контролювалася за допомогою датчика Холла вимірювачем магнітної індукції.

МСХ-осередок являє собою порожнинно-пропускаючий фільтр, виготовлений на підставі феритової плівки з ітрій-залізного гранату. Постійне магнітне поле прикладають дотично до поверхні феритової плівки. У феритовій плівці збуджувалися поверхневі магнітостатичні хвилі.

В МСХ-осередку розташовувалася пробірка з дріжджами, що являла собою пластикову трубку з внутрішнім діаметром 9 мм, з одного боку якої наклеєна тефлонова плівка товщиною 30 мкм.

Використовуючи принцип роздільного виділення і детектування сигналів падаючої і минулої хвиль, спостерігали та вимірювали параметри магніто статичних хвиль, що збуджуються в МСХ-осередку.

Опроміненню підлягали сухі хлібні дріжджі та мікроорганізми *Saccharomyces bayanus* штам LW185-25. Вплив здійснювався при різних значеннях напруженості постійного магнітного поля зміщення. Потужність МСХ була порядку 1-100 мкВт. Термін експозиції складав від 10 до 60 хвилин. Після опромінення дріжджі вміщувалися в живильне середовище, що являло собою 3 %-й розчин цукру в воді. Визначення впливу опромінення на біологічну активність мікроорганізмів, що досліджувались, відбувалось за критерієм зміни відносного приросту біомаси дріжджів у порівнянні з контрольним (не опроміненим) зразком. Метод контролю - фотометричний, що дозволяє отримувати часові залежності змін відносного приросту об'єму біомаси дріжджів. Дискретність збору інформації не менша 0,01 с, що дозволяло спостерігати швидкопротікаючі динамічні події в процесі зростання.

Даний спосіб вибрано як прототип.

Прототип та заявлюваний спосіб мають загальну ознаку (операцію) - обробка мікроорганізмів електромагнітним полем.

Однак спосіб за прототипом є достатньо складним, вважаючи на необхідність обробки тільки на спеціальній установці, що містить складну та дорогу апаратуру: панорамний вимірювач КСВН та послаблення, спрямований рефлектометр, МСХ-осередок та ін.

У основу корисної моделі поставлено задачу розробити удосконалений спосіб зміни біологічної активності мікроорганізмів, у якому здійснюється обробка грибів *Cordyceps chinensis* електромагнітним полем з певними параметрами, забезпечити спрощення способу та скорочення терміну досягнення повного сквашування закваски з використанням вказаного грибку.

Поставлена задача розв'язана у способі зміни біологічної активності мікроорганізмів, що передбачає обробку їх електромагнітним полем тим, що грибок *Cordyceps chinensis* обробляють

електромагнітним полем з довжиною хвилі $\lambda=0,122$ м з питомою потужністю поля 60-80 Вт/кг. При цьому температура грибків підвищується до 29 - 30°C. Крім того обробку здійснюють електромагнітним полем частотою 2,4 ГГц протягом 5-10 хвилин.

5 Кефірний тибетський гриб *Cordyceps chinensis* (симбіотична група бактерій та мікроорганізмів роду Зооглея (*Zoogloea*)) є симбіозом більше десяти різних мікроорганізмів, що ростуть та розмножуються разом. У склад гриба входять:

лактобактерії,
оцтовокислі бактерії,
молочні дріжджі.

10 Кефір, що утворюється в результаті життєдіяльності кефірного грибу, є продуктом одночасно і молочнокислого, і спиртового бродіння. У кефірі міститься молочна кислота, спирт і вуглекислий газ.

Хімічний склад кефірного грибу:

15 В хімічний склад кефіру тибетського кефірного грибу надходять наступні елементи в розрахунку на кожні 100 грамів продукту:

вітамін А - від 0,04 до 0,12 мг;
вітамін В1 (тіамін) - близько 0,1 мг;
вітамін В2 (рибофлавін) - від 0,15 до 0,3 мг;
каротиноїди, що перетворюються в організмі у вітамін А, - від 0,02 до 0,06 мг;
20 ніацин (РР) - близько 1 мг;
вітамін В6 (пиридоксин) - до 0,1 мг;
вітамін В12 (кобаламін) - близько 0,5 мг;
кальцій - 120 мг;
залізо - близько 0,1-0,2 мг;
25 йод - близько 0,006 мг;
цинк - близько 0,4 мг;
фолієва кислота;
молочні бактерії (лактобактерії);
дріжджеподібні мікроорганізми;
30 спирт;

ферменти, кислоти (в тому числі вуглекислота), білки, що легко засвоюються, полісахариди, а також вітамін D.

35 Режими обробки грибів *Cordyceps chinensis* підібрані експериментально. Обробка мікроорганізмів електромагнітним полем з питомою потужністю, меншою за 60 Вт/кг та температурою нагріву, меншою за 29 °С не є доцільною, тому що не досягається необхідне значення рН закваски (як вказано вище, рН закваски повинно дорівнювати 4,6).

Обробка грибів *Cordyceps chinensis* електромагнітним полем з питомою потужністю, більшою за 80 Вт/кг призводить до пригнічення життєдіяльності грибків. Нагрів більш, ніж на 30 °С призводить до інгібування.

40 Приклад.

Мікроорганізми *Cordyceps chinensis* в кількості 2 г вміщували в камеру опромінення Daewoo КОС-1М1К і обробляли електромагнітним полем довжиною хвилі 0,122 м з питомою потужністю поля 80 Вт/кг. Обробку проводили протягом 10 хвилин, при цьому контролювали температуру біомаси. Коли температура біомаси досягала 29 °С, обробку припиняли.

45 Оброблені таким чином грибки заливали молоком та витримували при температурі 25 °С з періодичним вимірюванням рН середовища, яке поступово зменшувалося.

Через 17 годин рН середовища становило 4,6. Процес сквашування закінчився. Продукт готовий до вживання.

50 Паралельно процес здійснювали аналогічно описаному, але без електромагнітної обробки грибків *Cordyceps chinensis*. Значення рН=4,6 було досягнуто через 23 години.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

55 Спосіб змінення біологічної активності мікроорганізмів, що передбачає обробку їх електромагнітним полем, який **відрізняється** тим, що гриб *Cordyceps chinensis* обробляють електромагнітним полем з довжиною хвилі 0,122 м та питомою потужністю поля 60-80 Вт/кг до підвищення їх температури до 29-30 °С.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601