

УДК 579.864+616–095+579.61:615.27

Н.В. Дехтяренко, О.М. Дуган

ОСОБЛИВОСТІ ПРИГОТУВАННЯ І ФЕРМЕНТАЦІЯ СОЄВОГО МОЛОКА ПЕРЕДСТАВНИКАМИ РОДУ *LACTOBACILLUS*

The first stages of development of new laboratory technology sanitary sour-milk products on the basis by an especial mode cultivated seeds of soy have shown. For preparation soybean milk the soybean flour made according to new national technology ECO® (producer ООО "ECO") has used. The optimum technology of pretreatment of a soybean flour has found with the purpose of subsequent usage as a base for nutrient fermentations mediums. Has established, that milk from soy ECO "The present of the sun – Super" as much as possible induce biosynthetic processes for the strains *L. delbrueckii* subsp. *lactis* LE and *L. rhamnosus* LB3.

Вступ

В умовах сучасного екологічного дисбалансу актуальною проблемою багатьох галузей харчової промисловості є випуск продуктів, що мають фізіологічний вплив і певні функціонально-технологічні властивості. Вживання продуктів, які містять подібні домішки, дає можливість коректувати раціони харчування, сприятливо впливає на здоров'я [1–3].

Відомо, що соя – це унікальний повноцінний білок рослинного походження, майже ідентичний білку тваринному. Вона містить необхідні для організму людини мінеральні речовини: калій, натрій, цинк, кальцій, залізо, фосфор, вітаміни груп В, Д, і Е. В сої знайдено фітохімічні речовини, які мають протипухлинну та антисклеротичну дію. Продукти із сої відзначаються відсутністю холестерину, полінасичених жирних кислот і низькою калорійністю, а рослинна клітковина в таких продуктах сприяє очищенню організму від токсинів, солей важких металів і радіонуклідів та знижує рівень холестерину в крові [4].

На основі соєвого молока створюються кисломолочні продукти як для звичайного раціону харчування, так і для лікувального харчування дітей і дорослих, які страждають важкими шлунково-кишковими розладами, різними формами легеневих, алергійних захворювань, а також з метою корекції раціонів харчування за основними поживними та фізіологічно активними речовинами за необхідності поповнення організму легкозасвоюваним рослинним білком [5].

Водночас пробіотичні властивості бактерій роду *Lactobacillus* нині широко використовуються як регулятори стану нормальної мікрофлори шлунково-кишкового тракту в птахівництві, тваринництві і медицині [6]. Препарати

лактобактерій позитивно впливають на стан здоров'я людей і тварин, пригнічуючи розмноження умовно патогенних і патогенних мікроорганізмів і регулюючи реакції імунітету.

Постановка задачі

Метою дослідження є розробка нової лабораторної технології оздоровчих продуктів на основі особливим чином обробленого насіння сої з використанням молочнокислих бактерій роду *Lactobacillus* за рахунок підвищення харчової і біологічної цінності кисломолочних продуктів на основі соєвого молока.

Матеріали і методи експериментальних досліджень

У дослідженні використовувались культури лактобактерій *L. delbrueckii* subsp. *lactis* LE і *L. rhamnosus* LB3 (ІМВ В-7038). Вибір кожної з них зумовлено такими факторами: штам *L. delbrueckii* subsp. *lactis* LE походить від болгарської палички *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB51, клітинна стінка якої є джерелом імуноактивних компонентів; штам *L. rhamnosus* LB3 тривалий час використовувався як заквашувальна культура для виготовлення домашніх кисломолочних продуктів з оздоровчими властивостями і має високий антагоністичний потенціал [6].

Зберігання культур здійснювалося при температурі 4 °С в пробірках у товщі напіврідкого (0,2 % агар-агару) середовища MRS (середовище *de Man, Rogosa, Sharpe*, 1960) [7], розлитого в кількості 8 мл. Частота пересіву – один раз на місяць.

Культивування лактобактерій здійснювалося при температурі 38 ± 1 °С на соєвому молоці. Підбір способу приготування соєвого мо-

лока здійснювався на першому етапі дослідження. Для приготування соєвого молока використовувалося соєве борошно, виготовлене згідно з новою національною технологією ЕСО® (виробник ТОВ “ЕСО”). Технологія ЕСО® (патент України № 3270, патент РФ № 24969) підвищує ефективність переробки насіння сої, що пов’язано зі зміною механізму перетворень у цілісній зернівці. Нова технологія обробки одержала назву “пробудження насіння”. Перетворення в зернівці аналогічні природним і відбуваються за рахунок обробки інфрачервоними променями. Тривалість процесу пробудження насіння становить лише 60–80 с. Закінчення процесу пробудження характеризується збільшенням пористості і податливості зернівки, видаленням з неї хімічно не зв’язаної вологи. В результаті пробудження насіння відбуваються біохімічні перетворення речовин, зовнішнє і внутрішнє знезараження зернівок.

Процес пробудження цільного насіння відповідно до технології ЕСО® дає змогу трансформувати поживні речовини, які містяться в цілісній зернівці, із запасного стану в легкозасвоювані форми і одержати склад, який містить білки з підвищеною біологічною цінністю, вуглеводи у вигляді декстринів і водорозчинних форм крохмалю, жири переважно у вигляді поліненасичених жирних кислот. При цьому максимально зберігається весь комплекс вітамінів і мінеральних речовин, характерних для цільного насіння.

Використовувалися три види соєвого борошна, назви і склад якого подано в табл. 1.

pH середовищ вимірювався за допомогою рН-метра марки рН-150МА. Вихідне значення рН середовищ становило 6,8–7,0. Поживні середовища стерилізувалися при тиску 0,5 МПа протягом 20 хв.

Таблиця 1. Види і склад соєвого борошна, виготовленого згідно з новою національною технологією ЕСО® (виробник ТОВ “ЕСО”)

Склад	Соєа ЕСО “Подарунок сонця” (“Супер”)	Соєа ЕСО пробуджена, помел 0,8 (дрібнодисперсний)	Соєа ЕСО пробуджена, помел 1,0 (звичайний)
Вміст поживних речовин в 100 г продукту, г			
Білки	40,0	39,8	—*
Жири	20,0	20,0	—
Вуглеводи	29,0	25,0	—
Енергетична цінність в 100 г продукту, ккал	456	447	—
Вологість, %	6	6	6

* “—” — не визначено.

Кількість білка у ферментаційному середовищі та культуральній рідині визначалася за методом Лоурі [8]. Культуральну рідину лактобактерій центрифугували зі швидкістю 3000 об/хв протягом 15 хв і відбирали супернатантну рідину. До 0,2 мл супернатантної рідини додавали 2,0 мл робочого розчину, який містив 1 мл 0,5 %-ного розчину $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в 1 %-ному K,Na -тарtratі та 50 мл 2 %-ного розчину Na_2CO_3 в 0,1 н розчині NaOH , перемішували і залишали на 10 хв. Потім додавали 0,2 мл реактиву Фоліна, перемішували і через 30 хв колориметрували при $\lambda = 750$ нм. Вміст білка розраховувався за калібрувальним графіком.

Вміст амінного азоту визначався методом формольного титрування [9].

Перед дослідженням зазначених вище показників культур лактобактерій здійснювалася їх адаптація культивуванням на рідкому середовищі MRS [7] протягом доби. Чистота культур лактобактерій перед засівом поживних середовищ перевірялась мікроскопіюванням. Посівний матеріал вносився в кількості 5 % від об’єму відповідного середовища. Потім культури вирощувалися протягом 24 год на різних варіантах соєвого молока.

Усі досліді проводилися тричі. Розраховувалися середнє арифметичне значення, середнє квадратичне відхилення та стандартна похибка. В поданих нижче таблицях вказано середні арифметичні значення показників. Розрахунки проводилися з використанням програми для роботи з електронними таблицями Microsoft Excel 2000.

Результати і їх обговорення

Підбір способу приготування соєвого молока.

Розроблення нових продуктів на основі сої з

використанням культур лактобактерій для коригування раціонів харчування за основними поживними і фізіологічно активними речовинами проводилося на першому етапі в лабораторних умовах та включало приготування нормалізованих соєвих поживних середовищ для культивування лактобактерій зі збереженням їх активної життєздатності.

Спосіб одержання соєвого молока був відкритий у Китаї близько 2500 років тому. Сьогодні для одержання соєвого молока використовується багато способів [10–15]. За даними літератури нами було обрано два найбільш прийнятних способи приготування соєвого молока в лабораторних умовах. Вони наведені нижче в авторській модифікації, яка полягала в підборі температури нагрівання та часу витримки суспензії соєвого борошна.

Спосіб № 1 [10]:

- змішування соєвого борошна з водою для одержання суспензії із вмістом сухих речовин 5–10 %;
- нагрівання суспензії 30 хв при температурі 50–60 °С;
- охолодження екстракту до кімнатної температури;
- фільтрація екстракту через тканинний фільтр;
- гомогенізація соєвого молока в гомогенізаторі марки MPW-309 протягом 15 хв.

Спосіб № 2 [11]:

- змішування соєвого борошна з водою при масовому співвідношенні борошно:вода = 1:10–1:20;
- ретельне перемішування суспензії;
- нагрів суспензії до температури кипіння і витримка 10 хв;

- охолодження екстракту до кімнатної температури;

- фільтрація екстракту через тканинний фільтр;

- гомогенізація соєвого молока в гомогенізаторі марки MPW-309 протягом 15 хв.

З трьох видів соєвого борошна ТОВ "ЕСО" було приготовано соєве молоко двома вказаними способами. Використовувалися масові співвідношення борошно:вода – 1:10; 1:15; 1:20. Соєве молоко аналізувалося на вміст загально-го білка та амінного азоту (табл. 2).

Порівняння біохімічних показників соєвого молока, приготованого двома способами, показало, що коротка, але високотемпературна обробка соєвої суспензії (спосіб № 2) дала змогу при однаковій концентрації сухих речовин одержати вихідне середовище з більш високим вмістом білка (в 1,2 разу) та амінного азоту (в 1,4 разу). Це дає підставу вважати, що одержана соєва суспензія містить більшу кількість біологічно активних речовин. Таким чином, нами було вибрано спосіб № 2 для подальшого приготування соєвого молока – поживного середовища для культивування лактобактерій.

З трьох типів соєвого борошна борошно типу ЕСО "Подарунок сонця" ("Супер") дало можливість одержати практично на 50 % більше вільних азотвмісних компонентів, ніж з сої ЕСО пробуджена, помел 0,8 (дрібнодисперсний). Білково-амінокислотний склад молока з сої ЕСО пробуджена, помел 1,0 (звичайний) був аналогічний складу молока з сої ЕСО пробуджена, помел 0,8 (дрібнодисперсний), тому для роботи було вибрано другий варіант соєвого борошна.

Вибір оптимального масового співвідношення борошно:вода був здійснений на основі

Таблиця 2. Характеристика соєвого молока з різних видів соєвого борошна за азотвмісними речовинами залежно від способу приготування

Концентрація азотвмісних речовин, мг/мл	Масове співвідношення борошно: вода	Соєв ЄСО "Подарунок сонця" ("Супер")			Соєв ЄСО пробуджена, помел 0,8 (дрібнодисперсний)			Соєв ЄСО пробуджена, помел 1,0 (звичайний)		
		Спосіб № 1	Спосіб № 2	Середнє співвідношення між способами	Спосіб № 1	Спосіб № 2	Середнє співвідношення між способами	Спосіб № 1	Спосіб № 2	Середнє співвідношення між способами
Білок	1:20	13,84	17,83	1,29	10,57	11,64	1,1	8,03	11,63	1,45
	1:15	22,98	25,51	1,11	20,41	24,08	1,17	20,01	25,85	1,29
	1:10	26,32	32,81	1,24	25,55	31,29	1,22	27,21	30,72	1,13
Амінний азот	1:20	0,16	0,22	1,37	0,15	0,19	1,27	0,13	0,16	1,23
	1:15	0,15	0,26	1,73	0,15	0,20	1,33	0,13	0,20	1,54
	1:10	0,22	0,20	0,9	0,18	0,24	1,33	0,16	0,30	1,88

подальших досліджень біологічних властивостей культур лактобактерій на соєвому молоці.

Біохімічні показники культур лактобактерій на соєвому молоці з різних видів соєвого борошна. Відомо, що соєве молоко багате на поживні речовини, необхідні для розвитку молочно-кислих мікроорганізмів. Соєві суміші містять оптимальні дози всіх необхідних вітамінів (А, Д, Е, С, В₁, В₂, В₆, РР, В₁₂, фолієву і пантотенову кислоти, біотин, холін, інозит), мінеральних солей (Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺) і мікроелементів (Fe²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, Mn²⁺, F⁻, I⁻) [16].

З метою порівняння біохімічних показників штамів *L. delbrueckii* subsp. *lactis* LE і *L. rhamnosus* LB3 на соєвому молоці з різних видів соєвого борошна проводився аналіз ферментаційних середовищ на вміст білка і значення водневого показника до культивування штамів і на 24-ту годину культивування. Результати подано в табл. 3.

Аналіз зниження рН після вирощування культур *L. delbrueckii* subsp. *lactis* LE та *L. rhamnosus* LB3 вказує на те, що максимальне зниження (22,02; 21,85; 34,71; 22,50 %) досягається на тих ферментаційних середовищах, в рецептурі яких борошно і вода співвідносяться як 1:20. Таким чином, найоптимальнішим за кислотоутворювальною здатністю слід визнати спосіб приготування соєвого молока при використанні масового співвідношення борошно:вода = 1:20.

Відомо, що концентрація білка в супернатанті культуральної рідини визначається, поперше, його кількістю, яка внесена з поживним середовищем і постійно зменшується залежно від поживних потреб штамів лактобактерій, а по-друге, кількістю білків-метаболітів, які екзогенно синтезуються клітинами і вміст яких може збільшуватись при інтенсифікації біосинтезу або зменшуватись при використанні цих метаболітів в процесі життєдіяльності культури. Тобто концентрація білка в супернатанті культуральної рідини залежить від інтенсивності цих протилежно направлених процесів.

За даними табл. 3, концентрація білка на 24-ту годину культивування обох штамів на молоці з сої ЕСО пробуджена, помел 0,8 (дрібнодисперсний) була на 35 % нижча за вихідну. Після вирощування штамів на молоці з сої ЕСО "Подарунок сонця" ("Супер") вміст білка в середовищі культивування *L. delbrueckii* subsp. *lactis* LE зростав на 6 %, а у *L. rhamnosus* LB3 зменшувався на 37 %. Таким чином, це поживне середовище індукуює процеси біосинтезу метаболітів білкової природи у штаму *L. delbrueckii* subsp. *lactis* LE, а для *L. rhamnosus* LB3 забезпечує високий рівень кислотоутворення при максимальному споживанні білкового субстрату.

Вплив джерел вуглеводного живлення. Згідно з даними літератури, концентрація цукру у соєвому молоці становить 7 мг/мл. Було визна-

Таблиця 3. Біохімічні показники при вирощуванні культур лактобактерій на соєвому молоці з різних видів соєвого борошна

Варіанти поживних середовищ	Масове співвідношення борошно:вода	Вихідні показники ферментаційного середовища		Характеристика середовища після вирощування <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> LE				Характеристика середовища після вирощування <i>L. rhamnosus</i> LB3			
		Концентрація білка, мг/мл	рН	Концентрація білка, мг/мл	% від вихідного вмісту білка	рН	% зниження рН	Концентрація білка, мг/мл	% від вихідного вмісту білка	рН	% зниження рН
Молоко з сої ЕСО "Подарунок сонця" ("Супер")	1:20	17,83	6,87	18,50	5,62	5,63	22,02	10,4	-37,45	5,10	34,71
	1:15	25,51	6,89	26,95	5,64	5,82	18,38	15,96	-37,45	5,45	26,42
	1:10	32,81	6,90	34,67	5,67	6,05	14,05	20,52	-37,45	5,67	21,69
Молоко з сої ЕСО пробуджена, помел 0,8 (дрібнодисперсний)	1:20	11,64	6,86	7,50	-35,57	5,63	21,85	7,50	-35,57	5,60	22,50
	1:15	25,08	6,89	16,16	-35,57	5,84	17,98	16,16	-35,57	6,72	2,53
	1:10	31,29	6,91	20,16	-35,57	5,91	16,92	20,16	-35,57	5,58	23,84

чено вплив на кислотоутворення домішок глюкози до ферментаційних середовищ з соєвого молока в кількості 1 та 1,5 % (табл. 4). Такі концентрації глюкози були вибрані для досягнення загальної кількості редуруючих цукрів у середовищі в середньому 2 %, що відповідає їх вмісту в оптимальному для росту лактобактерій середовищі MRS [7].

Таблиця 4. Вплив домішок глюкози до соєвого молока на кислотоутворення культур лактобактерій

Варіант ферментаційного середовища	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> LE	<i>L. rhamnosus</i> LB3
Молоко з сої ЕСО "Подарунок сонця" ("Супер")	6,06	5,07
Молоко з сої ЕСО "Подарунок сонця" ("Супер") + 1 (1,5) % глюкози	5,36	4,01
Молоко з сої ЕСО пробуджена, помел 0,8 (дрібнодисперсний)	5,65	5,60
Молоко з сої ЕСО пробуджена, помел 0,8 (дрібнодисперсний) + 1 (1,5) % глюкози	5,55	4,00

З табл. 4 видно, що при додаванні в середовище культивування 1 (1,5) % глюкози ступінь зменшення рН культуральної рідини на 1,8–28,5 % більший, ніж без домішок глюкози. Оскільки концентрації 1 і 1,5 % давали однаковий результат, то було вирішено обрати першу для подальшого приготування соєвих поживних середовищ.

Висновки

1. Розроблено оптимальну технологію попередньої обробки соєвого борошна з метою подальшого використання її як основи для поживних ферментаційних середовищ. Найкращий метод – це короткотривала високотемпературна обробка соєвого борошна.

2. З трьох типів соєвого борошна, наданого ТОВ "ЕСО", борошно типу ЕСО "Подарунок сонця" ("Супер") забезпечує максимальний вміст азотистих речовин в соєвому молоці, тобто є найкращим джерелом білкового живлення для молочнокислих бактерій.

3. Масове співвідношення борошно:вода, яке забезпечує максимум кислотоутворення культурами лактобактерій, становить 1:20.

4. Молоко з сої ЕСО "Подарунок сонця" ("Супер") індукує процеси біосинтезу метаболітів білкової природи у штаму *L. delbrueckii* subsp. *lactis* LE, а для штаму *L. rhamnosus* LB3 забезпечує високий рівень кислотоутворення при максимальному споживанні білкового субстрату.

5. Процес культивування лактобактерій на соєвих середовищах у лабораторних умовах доцільно проводити при температурі $38 \pm 1^\circ\text{C}$ і вихідному значенні рН 6,8–7,0 з внесенням молодого посівного матеріалу в кількості 5 % від об'єму поживного середовища. Найприйнятнішим джерелом енергії для досліджених культур є глюкоза в кількості 1 %.

6. Наступним етапом досліджень стане вивчення можливості використання гідролізатно-соєвого середовища як основи для виробництва продуктів функціонального харчування на основі сої та лактобактерій.

1. Голубев В.Н., Шелухина Н.П. Пектин: химия, технология, применение. – М.: АТН РФ, 1995. – 388 с.
2. Карпович Н.С., Донченко Л.В., Мелина В.В. Пектин: производство и применение. – К.: Урожай, 1989. – 88 с.
3. Силенко Г.П., Капрельянц Л.В., Ахметов А.С. Лечебные и питательные свойства соевых продуктов. – М.: Сигнал, 2000. – 146 с.
4. Все о блюдах из сои / Сост. И.Р. Киреевский. – Донецк: БАО, 2002. – 384 с.
5. Патент 2128444 Российская Федерация, МПК А 23С9/12, 9/127, 9/133, 11/10. Композиция для производства кисломолочного белкового продукта / Хачатрян А.П. – № 98103400/13; заявл. 10.03.98; опубл. 10.04.99, Бюл. № 10.
6. Дехтяренко Н.В. Особливості відбору пробіотичних культур роду *Lactobacillus* для створення препаратів і продуктів різного призначення: Дис. ... канд. сільгосп. наук: 03.00.20. – К., 2009. – 210 с.
7. Квасников Е.И., Нестеренко О.А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. – М.: Наука, 1975. – 390 с.
8. Справочник биохимика / Р. Досон, Д. Эллиот, У. Эллиот, К. Джонс; Пер. с англ. – М.: Мир, 1991. – 544 с.

9. *Кусеренко Н.Е., Бабенюк Ю.Д., Васильев А.Н.* Биохимия: Практикум. – К.: Вища шк., 1988. – 128 с.
10. *Бабич А.О.* Сучасне виробництво і використання сої. – К.: Урожай, 1993 – 432 с.
11. *Патент 47530 Україна, МПК А23С11/10, А23Л1/201, А23Ж1/14.* Спосіб одержання соєвого молока / Цигульов О.В. – № 2000020715; заявл. 09.02.00; опубл. 15.07.02, Бюл. № 7.
12. *Патент 54866 Україна, МПК А23С11/10.* Спосіб одержання соєвого молока / Капрельянц Л.В., Тіщенко В.М., Невмиваний С.Л., Білик А.Б. – № 2002043564; заявл. 29.04.02; опубл. 17.03.03, Бюл. № 3.
13. *Патент 47809 Україна, МПК А23С11/10.* Спосіб одержання соєвого молока / Силенко Г.П., Капрельянц Л.В., Шестобітов В.В.; ЗАТ НВО “Одеський біотехнологічний інститут”. – № 2001096549; заявл. 25.09.01; опубл. 15.07.02, Бюл. № 7.
14. *Патент 1807853 АЗ СССР, МПК А23Ж1/14.* Спосіб получения пищевой добавки / Московский технологический институт. – № 4950556/13; заявл. 27.06.91; опубл. 07.04.93, Бюл. № 13.
15. *Патент 2056766 Российская Федерация, МПК А23Ж1/20.* Спосіб получения водной суспензии из бобового и зернового сырья / Ким В.Л., Борткевич С.В., Милорадова Е.В. – № 92012382/13; заявл. 16.12.92; опубл. 27.03.96, Бюл. № 9.
16. *Лазарь В.Г.* Соя: история сои, применение в пищевой промышленности, технологии. – К.: ТОВ Раритет, 2003. – 144 с.

Рекомендована Радою
факультету біотехнології і біотехніки
НТУУ “КПІ”

Надійшла до редакції
11 лютого 2011 року