

УДК 664.863.813

И. Б. РАЗВЯЗНАЯ, В. Н. ТИМОФЕЕВА

ИЗМЕНЕНИЕ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ТЫКВЕННОГО СОКА ПРИ ФЕРМЕНТАЦИИ МОЛОЧНОКИСЛЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Могилевский государственный университет продовольствия

(Поступила в редакцию 05.02.2009)

Введение. Лидером среди полезных для здоровья негазированных напитков по-прежнему остается рынок натуральных соков. Различные новинки сокового рынка открывают широкие возможности для пищевых продуктов, таких как функциональные соки с новыми интересными сочетаниями вкусов, соки с низким содержанием калорий, обогащенные напитки.

Молочнокислородное брожение является одним из самых древних способов консервирования. В результате молочнокислородного брожения накапливается молочная кислота, которая, являясь специфическим антисептиком, придает продукту определенные вкусовые качества. Обладая сильным антимикробным действием, молочная кислота характеризуется низким порогом ощущения кислоты, что позволяет получать продукты с приятным кислым вкусом. Благодаря снижению значения активной кислотности в лактоферментированном продукте появляется возможность смягчения режимов тепловой обработки продукции при консервировании. Все это способствует максимальному сохранению нативных биологически активных веществ продукта.

Сегодня для Республики Беларусь актуальным является производство сброженных соков с применением молочнокислородных бактерий: сброженные таким образом овощные соки обладают радиопротекторными и антиканцерогенными свойствами, которые объясняются комбинированным влиянием их состава и иммуногенной активностью микроорганизмов [1, 2].

Цель настоящей работы – сравнительный анализ качественного и количественного состава белка тыквенного сока, лактоферментированного тыквенного сока до и после пастеризации.

Объекты и методы исследования. Исследования проводили на кафедре технологии пищевых производств Могилевского государственного университета продовольствия в 2003–2009 гг. Объектами исследования являлись сорта тыквы с желтой кожурой, районированные в Республике Беларусь (Витаминная, Мозолеевская), тыквенный сок прямого отжима, лактоферментированный тыквенный сок до и после тепловой обработки.

Для получения тыквенного сока прямого отжима тыкву предварительно мыли, резали на части (сегменты) вручную шириной 50–70 мм, очищали от кожицы, отделяли семена и внутреннюю пленку, подвергали дроблению на частицы размером 2–3 мм, отделяли сок-самотек. Сок из мякоти получали прессованием на лабораторном прессе, смешивали с соком-самотеком и фильтровали.

Исследование химического состава проводили по следующим методикам: массовую долю растворимых сухих веществ определяли рефрактометрическим методом по ГОСТ 28562–90; массовую долю титруемых кислот – по ГОСТ 25555.0–82; активную кислотность – по ГОСТ 26188–84; общее количество сахаров и массовую долю редуцирующих сахаров исследовали перманганатным методом по ГОСТ 8756.13–87; содержание витамина С определяли титриметрическим методом по ГОСТ 24556–89; содержание β-каротина – фотоэлектроколориметрическим методом по ГОСТ 8756.22–80; количественную оценку содержания нитратов в сырье проводили ионометрическим экспресс-методом, который основан на измерении кон-

центрации нитрат-иона ионоселективным электродом в солевой суспензии 1%-ного раствора алюмокалиевых квасцов.

Аминокислотный состав определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием прибора Agilent 1200.

Опыты проводили в 5–6-кратном повторении. Обсуждались только те результаты, которые не расходились с допустимой соответствующим стандартом величиной.

Результаты и их обсуждение. Для Республики Беларусь тыква является доступным сырьем для производства соков и напитков, однако из-за специфического вкуса в чистом виде соки и напитки из нее практически не производятся, а выпускаются в сочетании с другими овощами или плодами.

Т а б л и ц а 1. Физико-химические показатели исследуемых образцов

Показатель	Объект исследования	
	тыква	тыквенный сок прямого отжима
Массовая доля растворимых сухих веществ, %	4,20	4,20
Массовая доля титруемых кислот (в пересчете на яблочную кислоту), %	0,10	0,10
Активная кислотность pH	5,82	5,82
Массовая доля сахаров, %	3,20	2,90
в т. ч. редуцирующих	2,80	2,30
сахарозы	0,38	0,57
Витамин С, мг/100 г	5,43	3,82
β-каротин, мг/100 г	1,26	0,01
Содержание нитратов, мг/100 г:		
в мякоти	226	183
в кожуре	279	–

Химический состав и пищевая ценность готовых соков обусловлен химическим составом исходного сырья. В свою очередь, химический состав овощей различен в зависимости от сорта, условий выращивания, сроков сбора сырья и режимов хранения. В связи с этим представляло интерес изучение основных физико-химических показателей тыквы и тыквенного сока (табл. 1).

Пищевая ценность тыквы обусловлена содержанием в ней углеводов, витаминов, минеральных солей, органических кислот, ферментов. Сахара представлены глюкозой, фруктозой и сахарозой. Как видно из табл. 1, исследуемый образец тыквы имеет относительно невысокое содержание сухих веществ, что значительно ниже значений, приводимых в различных литературных источниках. Это, очевидно, обусловлено климатическими условиями и агротехникой выращивания.

Основную часть сухих веществ тыквы (76%) составляют сахара, причем основная доля приходится на редуцирующие. Активная кислотность образцов приближена к нейтральному значению. Плоды тыквы содержат витамин С, β-каротин. Однако следует отметить, что в тыквенном соке прямого отжима практически отсутствует β-каротин; отмечается частичная потеря сахаров (до 10%) и витамина С (до 30%) вследствие окисления последнего кислородом воздуха и контактом с металлическими поверхностями при измельчении.

Для ферментации тыквенного сока использовали концентрат бактериальный прямого внесения Lyofast MOS 0.64E (изготовитель Sacco str, Италия), состоящий из комбинации *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* и *Lactococcus lactis subsp. cremoris*. Дозу вносимого концентрата определяли экспериментально. За основу критерия при выборе дозы брали скорость ферментации до достижения в сброженном соке pH < 4,0, что необходимо для «смягчения» режимов при последующей термической обработке сока. Продолжительность лактоферментации не более 24 ч. Для получения лактоферментированного сока с гармоничными органолептическими показателями и усиления протекания молочнокислого брожения к исследуемому образцу тыквенного сока добавляли сахар. Полученный субстрат пастеризовали, охлаждали до температуры ферментации и далее вносили концентрат молочнокислых бактерий (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Физико-химические показатели тыквенного сока

Показатель	Тыквенный сок с сахаром	
	до лактоферментации	после лактоферментации
Массовая доля растворимых сухих веществ, %	8,5	8,0
Массовая доля титруемых кислот, %	0,10	0,43
Активная кислотность pH	5,82	4,00
Массовая доля сахаров, %	7,80	6,60
в т. ч. редуцирующих	2,63	2,40
сахарозы	4,91	3,99
Содержание нитратов, мг/100 г	183	128

В соке тыквенном, подвергнутом молочнокислому брожению, снизилось содержание растворимых сухих веществ по сравнению с исходным содержанием их в соке с сахаром. Это обусловлено расходом сахаров в процессе молочнокислого брожения и синтезом эквивалентного количества молочной кислоты.

Тыква характеризуется повышенной способностью к накоплению нитратов, что необходимо учитывать при ее переработке. Причем, как видно из табл. 1, в кожуре их содержание намного выше, чем в мякоти. На основании проведенных исследований (табл. 2) установлено, что после молочнокислого брожения содержание нитратов снизилось на 30% по сравнению с его первоначальным значением. Уменьшение содержания нитрат-ионов происходит не только из-за проводимой тепловой обработки сока перед ферментацией, но и поглощения нитратов молочнокислыми бактериями. В целом содержание нитратов в готовом продукте не превышает допустимый уровень.

Т а б л и ц а 3. Аминокислотный состав исследуемых образцов

Аминокислота	Содержание свободных аминокислот в соке тыквенном, мг/100 г		
	прямого отжима	молочнокислого брожения	молочнокислого брожения пастеризованный
	<i>Незаменимые аминокислоты</i>		
Треонин	0,630	2,191	2,642
Валин	1,181	Не обнаружен	Не обнаружен
Изолейцин	2,312	0,899	0,838
Лейцин	0,811	Не обнаружен	Не обнаружен
Фенилаланин	2,966	Не обнаружен	Не обнаружен
Метионин	0,815	1,519	1,954
	<i>Заменимые аминокислоты</i>		
Аспарагиновая кислота	21,890	17,831	18,892
Глутаминовая кислота	4,082	3,042	3,647
Серин	3,536	1,654	2,106
Гистидин	1,352	2,578	3,217
Глицин	1,018	0,757	0,954
Аргинин	4,227	2,969	3,641
Аланин	3,221	7,125	8,532
Тирозин	1,117	0,829	1,106
Цистеин	43,856	17,239	20,121
Пролин	1,234	0,012	0,063

Азотистые вещества плодов имеют существенное значение для формирования питательных и органолептических свойств продуктов, стойкости при хранении и сохранности витаминов. Свободные аминокислоты принимают участие в реакциях, связанных с образованием аромата и цвета, входят в состав ферментов, принимающих участие в дыхании при хранении сырья, в изменениях свойств сырья при переработке [3]. В процессе молочнокислого брожения аминокис-

лоты могут подвергаться ферментативным изменениям с образованием органических кислот, альдегидов, аминов и других соединений, многие из которых обладают сильно выраженными вкусовыми свойствами.

Нами был изучен качественный и количественный состав свободных аминокислот тыквенного сока прямого отжима (табл. 3). Так, в соке было обнаружено наличие 16 аминокислот, присутствующих в растительных объектах. В тыкве присутствует 6 незаменимых аминокислот из 8: отсутствовали триптофан и лизин.

В соке тыквенном, прошедшем молочнокислое брожение, наблюдается изменение в качественном и количественном составе свободных аминокислот (табл. 3). При этом суммарное содержание аминокислот практически не изменилось.

Изменения в аминокислотном составе лактоферментированного тыквенного сока напрямую связаны с деятельностью молочнокислых бактерий, их протеолитической активностью, поскольку они обладают сложным комплексом вне- и внутриклеточных протеолитических ферментов. Качественный и количественный состав протеаз в этом комплексе, их активность сильно варьируется в зависимости от штаммовой принадлежности бактерий и от условий их культивирования. Из литературных источников [4] известно, что среди стрептококков наиболее активными протеолитами являются представители видов *Lcc. lactis subsp. lactis*, *Lcc. lactis subsp. cremoris*, *Str. salivarius subsp. thermophilus*. Лактобактерии имеют более высокую протеолитическую активность и накапливают больше аминокислот по сравнению со стрептококками.

Свободные аминокислоты, содержащиеся в субстрате, активно используются молочнокислыми бактериями для синтеза бактериального белка. При этом в случае совместного культивирования молочнокислых бактерий с сильной и слабой протеолитической активностью содержание свободных аминокислот падает за счет потребления их слабыми культурами [5]. Исследуемая нами комбинация бактерий обладает слабой протеолитической активностью.

В соке, прошедшем молочнокислое брожение, не были обнаружены три незаменимые аминокислоты, которые в невысоких количествах присутствовали в свежем соке, – валин, фенилаланин и лейцин. Возможно, их использовали молочнокислые бактерии для своей жизнедеятельности.

Содержание аспарагиновой, глутаминовой кислот, глицина и тирозина снизилось с 18 до 26%, серина – до 53%, в 2,5 раза уменьшилось содержание цистеина и изолейцина. Наблюдалось очень резкое снижение содержания пролина (более чем в 100 раз). Значительно повысилось количество гистидина, треонина, аргинина, аланина и метионина.

Несмотря на уменьшение содержания ряда аминокислот, оставшиеся, благодаря многим уникальным особенностям этих природных веществ, играют важную роль в жизнедеятельности организма человека.

Так, треонин является предшественником витамина B_{12} . Гистидин входит в состав гемоглобина, миелиновых оболочек, покрывающих нервные клетки, необходим для поддержания противинфекционного иммунитета, защищает от повреждающего действия радиации, способствует выведению солей тяжелых металлов из организма.

Аргинин необходим для нормального функционирования гипофиза, стимулирует секрецию некоторых гормонов, способствует метаболизму накопившихся в организме жиров, обеспечивает физическую и психическую выносливость, оказывает иммуностимулирующий и тимусотропный эффекты, замедляет рост опухолей. В аргинине и гистидине особенно нуждается молодой организм.

Аланин снижает риск образования камней в почках, регулирует функции иммунной системы, помогает борьбе с гипогликемией.

Метионин является универсальным донором метильных групп и серы, участвует в обмене жиров и фосфолипидов, в обмене витамином B_{12} и фолиевой кислоты, в процессах регуляции веса и роста живых организмов; является необходимым компонентом для образования множества антиоксидантов белковой природы, для синтеза нуклеиновых кислот, коллагена. Он необходим для нормального функционирования печени, незаменим при остеопорозе, уменьшает мышечную слабость, является достаточно эффективным лечебно-профилактическим средством при гепатитах, циррозах, токсикозе беременных, снижает риск возникновения рака у женщин.

Метионин защищает организм при отравлениях бактериальными эндотоксинами и некоторыми другими ядами [6–9].

Для придания стойкости при хранении лактоферментированный сок подвергали пастеризации при температуре 100 °С и в полученном образце также определили качественный и количественный состав свободных аминокислот (табл. 3).

Нами установлено, что в соке после пастеризации суммарное содержание свободных аминокислот несколько выше, чем в соке, не прошедшем тепловой обработки. Качественный состав остался неизменным. В количественном выражении содержание аминокислот увеличилось от 6 до 33% (в зависимости от аминокислоты), количество пролина возросло в 5,2 раза, содержание изолейцина снизилось примерно на 7%.

Повышение содержания свободных аминокислот вероятнее всего связано с разрушением под воздействием высокой температуры при проведении пастеризации белков сока и высвобождением кислот из связанного состояния.

Заключение. В результате исследования химического состава сока тыквы, тыквенного сока прямого отжима и сока, подвергнутого молочнокислому брожению, установлено, что тыквенный сок богат сахарам (3,2%), β-каротином (1,26 мг/100 г), активная кислотность близка к нейтральной среде (рН 5,82), относительно невысокое содержание витамина С (5,43 мг/100 г), поэтому он является благоприятной средой для целенаправленного развития молочнокислых бактерий.

Проанализировано изменение качественного и количественного состава белка в соке тыквенном прямого отжима и соке тыквенном, подвергнутом молочнокислому брожению до и после пастеризации. Так, в соке тыквенном идентифицировано 16 аминокислот, присутствующих в растительных объектах, в том числе 6 незаменимых (отсутствовали триптофан и лизин). В соке тыквенном, прошедшем молочнокислое брожение, наблюдается динамика в аминокислотном составе, однако суммарное содержание аминокислот практически не изменилось, что связано с использованием молочнокислыми бактериями свободных аминокислот субстрата для синтеза бактериального белка. Установлено, что в соке после пастеризации содержание свободных аминокислот несколько выше, чем в лактоферментированном соке, не прошедшем тепловой обработки. Такое изменение связано с разрушением под воздействием высокой температуры белков сока и высвобождением кислот из связанного состояния. Качественный состав аминокислот остался неизменным.

Литература

1. Гореньков, Э. С. Овощные соки и напитки «Здоровье», полученные с использованием биотехнологии / Э. С. Гореньков, Е. Н. Кузнецова, В. С. Афанасьева // Плодоовощные консервы – технология, оборудование, качество, безопасность: сб. материалов междунар. науч.-практ. конф. – Т. 1. – М.: ВНИИКОП, 2004. – С. 114–118.
2. Афанасьева, В. С. Сброженные овощные соки / В. С. Афанасьева, Е. Н. Кузнецова, А. М. Спиренкова // Пищевая промышленность. – 1992. – № 1. – С. 22–23.
3. Пищевая химия / под ред. А. П. Нечаева. – СПб.: ГИОРД, 2003. – 640 с.
4. Гриневич, А. Г. Молочнокислые бактерии. Селекция промышленных штаммов / А. Г. Гриневич. – Минск: Выш. школа, 1981. – 164 с.
5. Банникова, Л. А. Микробиологические основы молочного производства / Л. А. Банникова, Н. С. Королева, В. Ф. Семенихина. – М.: Агропромиздат, 1987. – 400 с.
6. Доронин, А. Ф. Функциональное питание / А. Ф. Доронин, Б. А. Шендеров. – М.: ГРАНТЪ, 2002. – 296 с.
7. Могильный, М. П. Пищевые и биологически активные вещества в питании / М. П. Могильный. – М.: ДеЛипринт, 2007. – 240 с.
8. Биохимия / под ред. Е. С. Северина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 786 с.
9. Егорова, О. А. Аминокислоты. Белки / О. А. Егорова, Е. А. Сорокина. – М.: Изд-во РУДН, 2006. – 46 с.

I. B. RAZVIAZNAYA, V. N. TIMOFEEVA

**CHANGE OF THE AMINO ACID COMPOUND OF PUMPKIN JUICE DURING LACTIC BACTERIA
FERMENTATION**

Summary

The chemical compound of a pumpkin, pumpkin juice and the juice subjected to lactic fermentation was investigated. The comparative analysis of qualitative and quantitative compound of protein in the investigated samples was carried out. In pumpkin juice 16 amino acids, including 6 irreplaceable ones, are identified.