

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА ФЕРМЕНТАЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО НАПИТКА ЗАКВАСКАМИ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Н.В. Попова[✉], К.С. Каменева

Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия

[✉]nvpopova@susu.ru

Аннотация. Отличительными свойствами соевых напитков является низкий уровень холестерина, высокое содержание белка и клетчатки, а также важных биологически активных соединений. Ферментация увеличивает выработку биологически активных веществ, а также улучшает переваривание белков сои более чем на 40 %. Целью нашего исследования стала оценка адаптации моновидовой и комплексной заквасок молочнокислых бактерий в растительной среде и возможностей оптимизации данного процесса, а также установление влияния процесса ферментации на антиоксидантные свойства пробиотического напитка. Для ферментации использованы: моновидовой концентрат бактерий вида *Lactobacillus acidophilus* и закваска бактериальная «Ацидофилин», включающая в себя штаммы: *Lactococcus Lactis ssp. lactis*, *Lactococcus Lactis ssp. cremoris*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*. Ферментация осуществлялась при 32; 37 и 42 °С. В результате установлена зависимость между температурой осуществления процесса ферментации и титруемой кислотностью напитка: в образце с моновидовым концентратом закваски *Lactobacillus acidophilus* кислотность за первые 14 часов ферментации при температуре 32 °С достигла значения 13,9 град, что в сравнении с комплексной закваской при этом же температурном режиме ниже на 9,9 град. Более активно происходит накопление молочной кислоты в образцах с комплексной закваской, при температуре 37 °С уже через 14 часов ферментации содержание молочной кислоты составило 6,7 мг/100 мл. Оптимумы процесса ферментации по температуре и длительности для моновидовой и комплексной закваски составили 35,9 °С в течение 19,4 часов и 36,4 °С в течение 19,3 часов соответственно. Увеличение АОА при ферментации составило от 11,7 до 83,6 %. Более активная адаптация комплексной закваски определяется составом штаммов микроорганизмов с разными температурными оптимумами, что делает такую закваску более жизнеспособной и устойчивой к тепловым стрессам по сравнению с моновидовой.

Ключевые слова: напиток на растительной основе, *Lactobacillus acidophilus*, моновидовая закваска, комплексная закваска, ферментация, антиоксидантные свойства

Благодарности. Статья выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (РНФ) в рамках проекта 23-26-10063.

Для цитирования: Попова Н.В., Каменева К.С. Оптимизация процесса ферментации растительного напитка заквасками молочнокислых бактерий // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». 2023. Т. 11, № 3. С. 75–82. DOI: 10.14529/food230309

Original article
DOI: 10.14529/food230309

OPTIMIZATION OF THE PROCESS OF HERBAL BEVERAGE FERMENTATION BY LACTIC BACTERIA STARTERS

N.V. Popova✉, K.S. Kameneva

South Ural State University, Chelyabinsk, Russia

✉nvpopova@susu.ru

Abstract. The distinctive properties of soy drinks are low cholesterol, high in protein and fiber, as well as important biologically active compounds. Fermentation increases the production of biologically active substances, and also improves the digestion of soy proteins by more than 40 %. The purpose of our study was to evaluate the adaptation of monospecific and complex starter cultures of lactic acid bacteria in the plant environment and the possibilities for optimizing this process, as well as to establish the effect of the fermentation process on the antioxidant properties of the probiotic drink. For fermentation, the following was used: monospecific concentrate of *Lactobacillus acidophilus* bacteria and bacterial starter “Acidophilus”, which includes strains: *Lactococcus Lactis ssp. lactis*, *Lactococcus Lactis ssp. cremoris*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*. Fermentation was carried out at 32; 37 and 42 °C. As a result, a relationship was established between the temperature of the fermentation process and the titratable acidity of the drink: in a sample with a mono-species concentrate of the *Lactobacillus acidophilus* starter culture, the acidity for the first 14 hours of fermentation at a temperature of 32 °C reached a value of 13.9 degrees, which, in comparison with the complex starter culture at the same temperature mode lower by 9.9 degrees. The accumulation of lactic acid in samples with complex starter is more active; at a temperature of 37 °C, after 14 hours of fermentation, the content of lactic acid was 6.7 mg/100 ml. The optimum fermentation process in terms of temperature and duration for mono-species and complex starter cultures was 35.9 °C for 19.4 hours and 36.4 °C for 19.3 hours, respectively. The increase in AOA during fermentation ranged from 11.7 to 83.6 %. A more active adaptation of the complex starter is determined by the composition of microorganism strains with different temperature optimums, which makes such a starter more viable and resistant to thermal stress compared to mono-species.

Keywords: plant-based drink, *Lactobacillus acidophilus*, mono-species starter, complex starter, fermentation, antioxidant properties

Acknowledgment. The article was financially supported by a grant from the Russian Science Foundation (RSF) within the framework of project 23-26-10063.

For citation: Popova N.V., Kameneva K.S. Optimization of the process of herbal beverage fermentation by lactic bacteria starters. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Food and Biotechnology*, 2023, vol. 11, no. 3, pp. 75–82. (In Russ.) DOI: 10.14529/food230309

Потребители всех возрастов ценят пользу для здоровья растительных заменителей молока, и, как следствие, потребление их в последнее время увеличилось на 60–70 % [3]. Напитки на растительной основе могут способствовать обеспечению легкодоступной здоровой и сбалансированной пищей растущего населения [9].

В 2017–2021 гг. потребление напитков на растительной основе в России демонстрировало положительную динамику и в 2021 г. достигло 57,0 тыс. тонн. Однако в 2022 г. объемы снизились до 50,9 тыс. тонн. Основными

причинами снижения объемов потребления растительного молока в России в 2022 г. было стремление российских потребителей к экономии и сокращение ассортимента продукции за счет уменьшения импорта на 56,5 % (до 8,3 тыс. тонн). Так, начиная с апреля 2022 г. компания Danone остановила импортные поставки растительных напитков Alpro из Бельгии.

Среди различных видов напитки на соевой основе по-прежнему остаются одними из самых популярных. Отличительными свойствами соевых напитков является низкий уровень холестерина, высокое содержанием бел-

ка и клетчатки, а также важных биологически активных соединений, среди которых незаменимые жирные кислоты, витамины, минералы, свободные сахара, пептиды и фенольные соединения, такие как флавоноиды [12].

Ферментация пищевых продуктов определяется как преобразование сложных углеводов, таких как крахмал и сахара, в простые соединения, такие как спирты, кислоты и CO_2 с использованием бактерий в анаэробных условиях [8]. Напитки на растительной основе в основном ферментируются естественным или контролируемым образом, что увеличивает выработку биологически активных веществ. Кроме того, переваривание полезных белков сои улучшается более чем на 40 % благодаря увеличению количества незаменимых аминокислот. Ферментированные напитки на соевой основе эффективны для профилактики здоровья человека [1, 2, 4].

Наиболее распространёнными пробиотическими бактериями, используемыми при ферментации, являются *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* [10, 11] и в основном применяются в производстве молочных и немолочных продуктов. Молочнокислые бактерии, такие как *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, and *L. casei* являются одним из самых популярных пробиотиков.

Напитки на растительной основе могут служить природными антиоксидантами, защищая организм от окислительного стресса и связанных с ним заболеваний. Кроме того, антиоксидантная активность растительного молока обусловлена фенольными соединениями, флавоноидами и витаминами А, Е и С. Многочисленные исследования показали важность антиоксидантных соединений в нейтрализации свободных радикалов в организме человека и предотвращении заболеваний [5–7].

Целью настоящего исследования стала оценка адаптации моновидовой и комплексной заквасок молочнокислых бактерий в растительной среде и возможностей оптимизации данного процесса, а также установление влияния процесса ферментации на антиоксидантные свойства пробиотического напитка.

Материалы и методы исследования

В качестве основы для растительного пробиотического напитка взят напиток безалкогольный из растительного сырья «Молоко соевое», «Здоровое меню» (ООО «Объединение Союзпищепром»).

Используемые для ферментации закваски: моновидовой концентрат бактерий вида *Lactobacillus acidophilus*, БК-Углич-АВ (ФГУП «Экспериментальная биофабрика», г. Углич) и закваска бактериальная «Ацидофилин», включающая в себя штаммы: *Lactococcus Lactis ssp. lactis*, *Lactococcus Lactis ssp. cremoris*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus* (ООО «Зеленые линии» г. Красногорск).

Ферментация напитка на соевой основе осуществлялась закваской по рекомендации изготовителя 0,1 г/100 мл в течение суток при температурах 32, 37 и 42 °С.

Таким образом, было сформировано 6 образцов, которым были присвоены условные обозначения:

- образцы растительного напитка на соевой основе, ферментированные моновидовым концентратом бактерий вида *Lactobacillus acidophilus*, БК-Углич-АВ (ФГУП «Экспериментальная биофабрика», г. Углич) при температурах 32, 37 и 42 °С – М/32, М/37 и М/42 соответственно;

- образцы растительного напитка на соевой основе, ферментированные комплексной закваской «Ацидофилин», включающей в себя штаммы: *Lactococcus Lactis ssp. lactis*, *Lactococcus Lactis ssp. cremoris*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus* (ООО «Зеленые линии» г. Красногорск) при температурах 32, 37 и 42 °С – К/32, К/37 и К/42 соответственно.

Оценку активности процесса ферментации проводили посредством определения титруемой кислотности через каждые 3 часа и накопления молочной кислоты, дополнительно оценивали изменение антиоксидантной активности растительного напитка при сквашивании его молочнокислыми бактериями.

Определение кислотности заключается в нейтрализации кислых солей, белков, свободных кислот и других кислых соединений раствором щелочи в присутствии индикатора фенолфталеина.

Количество молочной кислоты определяли спектрофотометрическим методом, который включает добавление исследуемого раствора к раствору хлорида железа (III), взятого в концентрации 0,1–0,3 %, измерение оптической плотности полученного раствора при длине волны 380–405 нм и количественное определение концентрации лактата в исход-

ном растворе – с использованием калибровочного графика.

Общая антиоксидантная (антирадикальная) активность определялась методом DPPH (%) по модификации. DPPH является стабильным свободно-радикальным соединением, которое широко используется в анализах для оценки способности антиоксидантов поглощать радикалы.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе оценивали показатель титруемой кислотности в ферментируемых напитках как фактор активности адаптации молочнокислых бактерий в растительной среде (рис. 1).

В результате оценки была установлена зависимость между температурой осуществления процесса ферментации и динамикой увеличения титруемой кислотности.

В образце с моновидовым концентратом закваски *Lactobacillus acidophilus* кислотность за первые 14 часов ферментации при температуре 32 °С достигла значения 13,9 град, что в сравнении с комплексной закваской при этом же температурном режиме ниже на 9,9 град.

Наличие в комплексной закваске штаммов микроорганизмов с различными температурными оптимумами позволяет закваске быть более устойчивой к температурным стрессам и способствует активизации процесса ферментации.

Последующие результаты оценки количества молочной кислоты в соевых напитках при ферментации моновидовой и комплексной заквасками также показывают разную активность. Более активно происходит накопление молочной кислоты в образцах с комплексной закваской, при температуре 37 °С уже через 14 часов ферментации содержание молочной кислоты составило 6,7 мг/ 100 мл (рис. 2).

Известно, что оптимальной температурой развития *Lactobacillus acidophilus* является диапазон 37–38 °С, это подтверждает низкую степень накопления молочной кислоты в исследуемых образцах при 32 °С.

Более активная адаптация комплексной закваски определяется составом штаммов микроорганизмов с разными температурными оптимумами: *Lactococcus Lactis ssp. lactis* – 28–32 °С, *Lactococcus Lactis ssp. cremoris* – 25–30 °С, *Lactobacillus acidophilus* – 37–38 °С, *Lactobacillus helveticus* – 42–45 °С, что делает такую закваску более жизнеспособной и ус-

тойчивой к тепловым стрессам по сравнению с моновидовой. Изменения температурного фактора при использовании комплексной закваски не замедляют процесс сквашивания растительной среды, а способствуют даже некоторому ускорению в связи с активизацией того или иного штамма молочнокислых бактерий.

С помощью математического моделирования были установлены оптимумы процесса ферментации по температуре и длительности для моновидовой и комплексной закваски (рис. 3), и они составили 35,9 °С в течение 19,4 часов и 36,4 °С в течение 19,3 часов соответственно.

Напитки на растительной основе могут служить природными антиоксидантами, защищая организм от окислительного стресса и связанных с ним заболеваний. Антиоксидантная активность напитков на растительной основе обусловлена фенольными соединениями, флавоноидами и витаминами А, Е и С [14]. Ферментированные напитки на соевой основе могут являться источником природных антиоксидантов благодаря фенольным соединениям.

Растительные напитки характеризуются наличием в составе флавоноидов, которые представляют собой фенольные соединения, играющие защитную роль в отношении болезней человека.

Для соевых напитков характерно наличие изофлавонов, которые, однако, обычно появляются в природе в нерастворимой гликозилированной форме (в основном даидзин и генистин) и для улучшения их всасывания в кишечнике необходимо превращение их в агликони (даидзеин и генистеин), характеризующиеся большей биодоступностью и эстрогенной и антиоксидантной активностью [13, 15].

В связи с этим нами проведена оценка антиоксидантных свойств ферментированных разными заквасками и при различных температурных режимах напитков на соевой основе.

Результаты оценки антиоксидантной активности (рис. 4) показывают положительное влияние на нее процесса ферментации. По сравнению с контрольным образцом – напитком на соевой основе до внесения в него заквасок молочнокислых бактерий – увеличение АОА при ферментации составило от 11,7 до 83,6 %.

Это можно объяснить способностью лактобактерий продуцировать β-гликозидазу, которая трансформирует гликозиды в соответ-

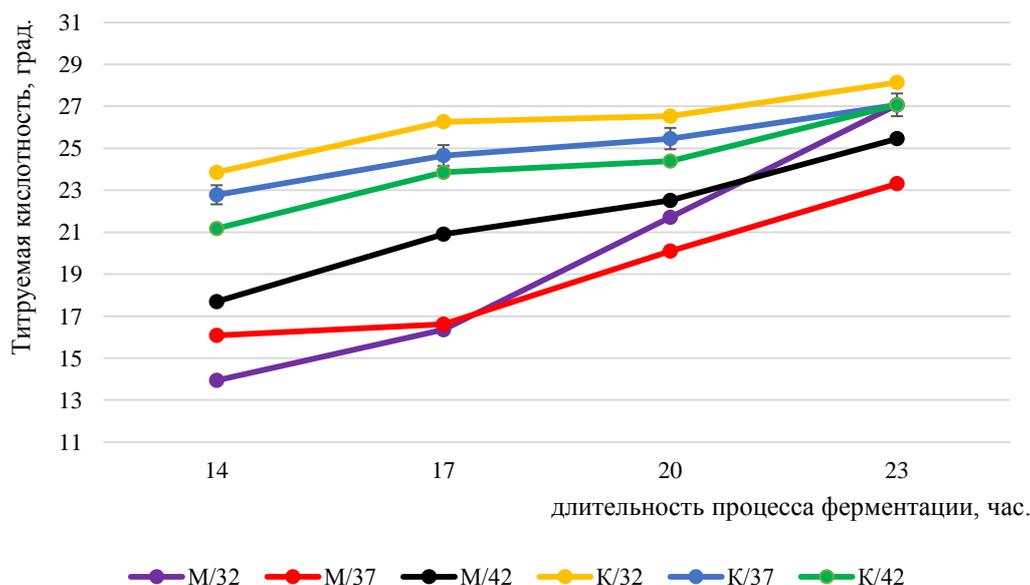


Рис. 1. Динамика изменения титруемой кислотности в исследуемых образцах соевого молока в процессе ферментации при разных температурных режимах, град

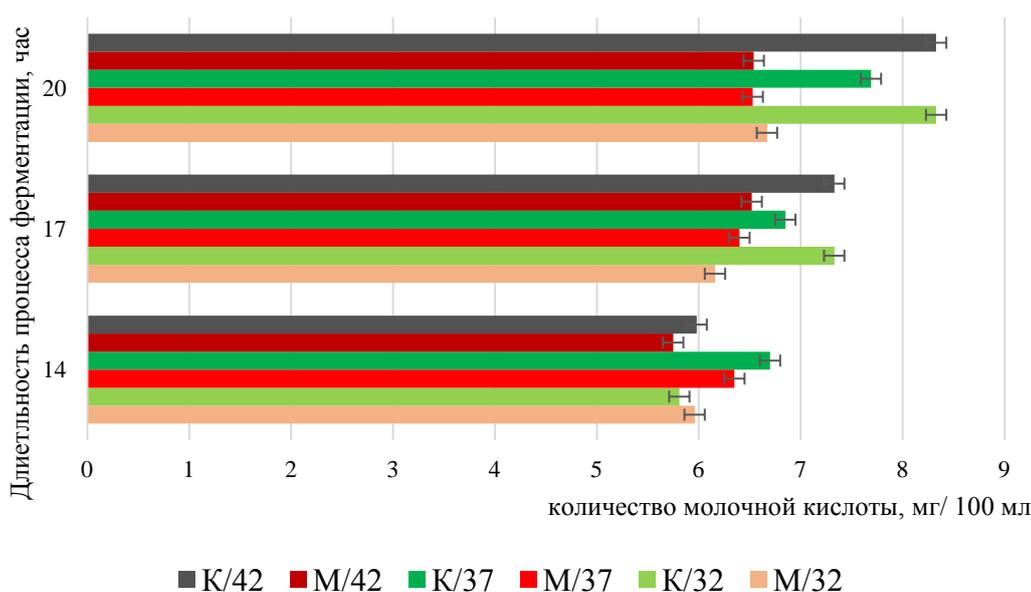


Рис. 2. Результаты определения количества молочной кислоты в исследуемых образцах ферментированных растительных напитков

ствующие им агликоны, улучшая функциональные свойства продукта [6, 7].

Причем результаты свидетельствуют об активном росте АОА в образцах, ферментированных комплексной закваской.

Заключение

Таким образом, проведенные исследования показали возможность использования растительного напитка на основе сои для фер-

ментации молочнокислыми бактериями как в моновидовой, так и в комплексной форме. Наличие в комплексной закваске штаммов микроорганизмов с различными температурными оптимумами активизирует процессы ее адаптации в растительной среде, делает такую закваску более жизнеспособной и устойчивой к тепловым стрессам по сравнению с моновидовой. Изменения температурного фактора

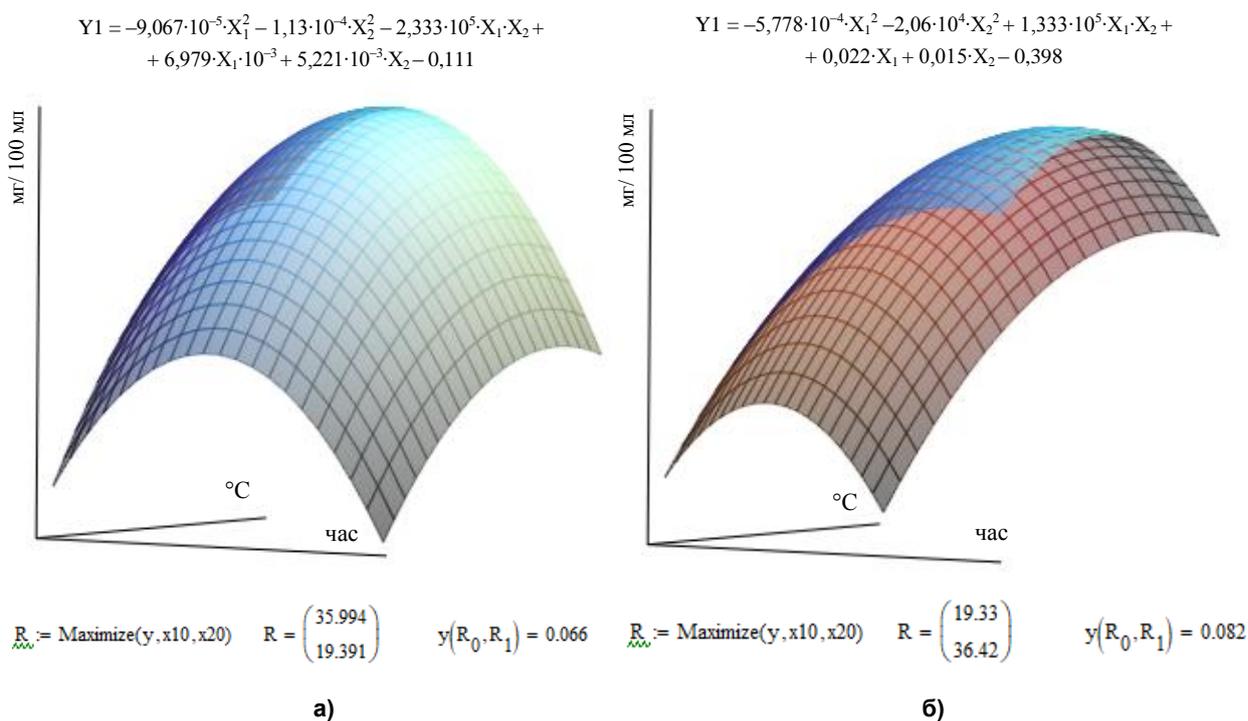


Рис. 3. Оптимизация условий ферментации молока соевого моновидовой (а) и комплексной (б) заквасками для максимального накопления молочной кислоты

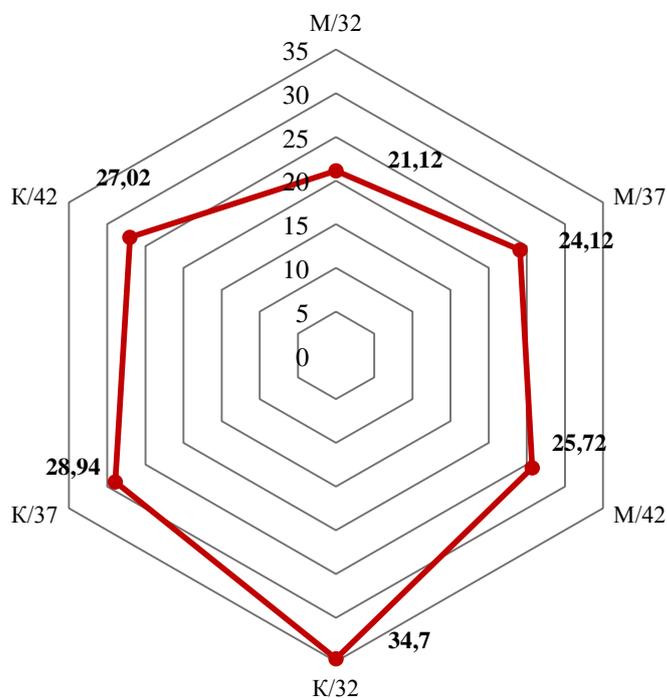


Рис. 4. Результаты оценки антиоксидантной активности исследуемых образцов ферментированных напитков на растительной основе, % (DPPH)

при использовании комплексной закваски не замедляют процесс сквашивания растительной среды, а способствуют даже некоторому ускорению в связи с активизацией того или иного штамма молочнокислых бактерий.

Кроме того, отмечается положительное влияние процесса ферментации на антиоксидантные свойства пробиотического напитка в связи с способностью лактобактерий продуцировать β -гликозидазу, трансформирующую гликозиды сои.

Список литературы / References

1. Барабой В.А. Изофлавоны сои: биологическая активность и применение // Биотехнология. 2009. Т. 2, № 3. С. 44–54. [Baraboy V.A. Soy isoflavones: biological activity and application and application. *Biotechnology*, 2009, vol. 2, no. 3, pp. 44–54. (In Russ.)]
2. Ahsan S. (2021). Functional exploration of bioactive moieties of fermented and non-fermented soy milk with reference to nutritional attributes. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 10(1), 145–149. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2020.10.1.145-149>
3. Aydar E. F., Tutuncu S., & Ozcelik B. (2020). Plant-based milk substitutes: Bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects. *Journal of Functional Foods*, 70, Article 103975. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103975>
4. Ciampo L.A.D. (2020). Impact of soy consumption on human health: Integrative review. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23, Article e2019129. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.12919>.
5. Fakri E.M., Lim S.M., Musa N.H., Hasan M.H., Adam A., & Ramasamy K. (2016). *Lactobacillus fermentum* LAB 9-fermented soymilk with enriched isoflavones and antioxidants improved memory *in vivo*. *Sains Malaysiana*, 45(9), 1289–1297.
6. Marazza J.A., Nazareno M.A., de Giori G.S., & Garro M.S. (2012). Enhancement of the antioxidant capacity of soymilk by fermentation with *Lactobacillus rhamnosus*. *Journal of Functional Foods*, 4(3), 594–601. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.03.005>
7. Oyedeji A., Mellem J., Nielsen D.S., & Ijadeniyi O.A. (2018). Microbial community of naturally fermented soymilk and soymilk-kefir produced from Sprouted soybeans under Optimized Sprouting conditions. In *IAFP 2018 annual meeting*. IAFP.
8. Paul A.A., Kumar S., Kumar V., & Sharma R. (2020). Milk analog: Plant based alternatives to conventional milk, production, potential, and health concerns. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(18), 3005–3023. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1674243>
9. Proserpio C., Fia G., Bucalossi G., Zanoni B., Spinelli S., Dinnella C., et al. (2020). Winemaking byproducts as source of antioxidant components: Consumers' acceptance and expectations of phenol-enriched plant-based food. *Antioxidants*, 9(8), 661. <https://doi.org/10.3390/antiox9080661>
10. Shori A.B. (2013). Antioxidant activity and viability of lactic acid bacteria in soybeanyogurt made from cow and camel milk. *Journal of Taibah University for Science*, 7(4), 202–208. <https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2013.06.003>
11. Shori A.B. (2020b). Proteolytic activity, antioxidant, and α -Amylase inhibitory activity of yogurt enriched with coriander and cumin seeds. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 133, Article 109912. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109912>
12. Wang Y.-C., Yu R.-C., & Chou C.-C. (2002). Growth and survival of bifidobacteria and lactic acid bacteria during the fermentation and storage of cultured soymilk drinks. *Food Microbiology*, 19(5), 501–508. <https://doi.org/10.1006/fmic.2002.0506>
13. Wansutha S., Yuenyaow L., Jantama K., & Jantama S.S. (2018). Antioxidant activities of almond milk fermented with lactic acid bacteria. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 42, 115–119.
14. Yu X., Meenu M., Xu B., & Yu H. (2021). Impact of processing technologies on isoflavones, phenolic acids, and antioxidant capacities of soymilk prepared from 15 soybean varieties. *Food Chemistry*, 345, Article 128612. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128612>

15. Zahrani A.J. AL., Shori A.B. Viability of probiotics and antioxidant activity of soy and almond milk fermented with selected strains of probiotic *Lactobacillus* spp. *LWT*, 176 (2023) 114531. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114531>.

Информация об авторах

Попова Наталия Викторовна, кандидат технических наук, доцент кафедры «Пищевые и биотехнологии», Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия, [nvpорова@susu.ru](mailto:nvpopova@susu.ru)

Каменева Ксения Сергеевна, лаборант УНИД, Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия

Information about the authors

Natalia V. Popova, Candidate of Sciences (Engineering), Associate Professor of the Department of Food Technology and Biotechnology, South Ural State University, Chelyabinsk, Russia, [nvpорова@susu.ru](mailto:nvpopova@susu.ru)

Ksenia S. Kameneva, UNID Laboratory Assistant, South Ural State University, Chelyabinsk, Russia.

Статья поступила в редакцию 05.07.2023

The article was submitted 05.07.2023