

FEATURES OF SOYBEAN PROTEIN PRECIPITATION IN TOFU PRODUCTION

I. Radziewska, O. Melnyk

National University of Food Technologies

Key words:

Tofu curd
Protein isoelectric point
Coagulants
Quality

Article history:

Received 09.07.2024
Received in revised form
25.07.2024
Accepted 12.08.2024

Corresponding author:

O. Melnyk
E-mail:
ksaname@gmail.com

Citation: Радзівська І. Г.,
Мельник О. П. (2024). Особ-
ливості осадження білків
сої при виробництві тофу.
Наукові праці НУХТ,
30(4), 146—153.
DOI: 10.24263/2225-2924-
2024-30-4-13

ABSTRACT

Tofu curd is made from soybeans, which are an excellent source of vegetable protein, lipids, vitamins and minerals. Demand for tofu worldwide is due to its high nutritional value and inclusion in vegetarian and low-calorie diets.

Since tofu production involves a multi-stage process that includes the selection of raw soybeans, soaking, grinding, heating soy milk, filtering, adding coagulants, pressing and packaging, it remains a challenge to produce a product of high quality and excellent taste.

After soaking and grinding, soybeans turn into raw soy milk, and soy protein changes from the solid phase to the liquid phase to form an emulsion. The heat treatment process denatures the soy milk protein and releases hydrophobic groups.

Coagulation and gelation of soy milk are important steps in the tofu production process that affect its quality. In soy milk, coagulation occurs due to cross-linking of protein molecules by coagulants with the subsequent formation of a gel structure. The completeness of protein release from soy milk solution depends on a number of factors, the most important of which is pH. As a rule, its maximum value is achieved at a pH value corresponding to the isoelectric point of the protein, which depends on the ratio of the number of carboxyl and amino groups in the molecule.

To slow down the precipitation of soy protein, it is proposed to add crystalline table salt or its aqueous solution to strained soy milk. Then the soy milk should be heated to a temperature of 85—110 °C and a coagulant should be added until the protein's isoelectric point is reached, which is in the pH range of 4.4—4.5. Solutions of weak organic acids (acetic, citric, lactic acids or mixtures thereof) have proven to be good coagulants. Cheese with a structure similar to mozzarella cheese is formed.

ОСОБЛИВОСТІ ОСАДЖЕННЯ БІЛКІВ СОЇ ПРИ ВИРОБНИЦТВІ ТОФУ

І. Г. Радзівєвська, О. П. Мельник

Національний університет харчових технологій

Сир тофу виготовляється із соєвих бобів, які є чудовим джерелом рослинного білка, ліпідів, вітамінів і мінералів. Попит на тофу у всьому світі пояснюється його високою поживною цінністю та включенням у вегетаріанські та гіпокалорійні дієти.

Оскільки виробництво тофу відбувається за багатостадійним процесом, що включає відбір сирого насіння сої, замочування, подрібнення, нагрівання соєвого молока, фільтрування, додавання коагулянтів, пресування та пакування, виготовлення продукту з високою якістю та чудовим смаком залишається складним завданням.

Після замочування та подрібнення соєві боби перетворюються на сире соєве молоко, а соєвий білок переходить з твердої фази в рідку, утворюючи емульсію. У процесі термічної обробки білок соєвого молока денатурується і гідрофобні групи вивільняються.

Коагуляція та гелеутворення соєвого молока є важливими етапами в процесі виробництва тофу, які впливають на його якість. У соєвому молоці коагуляція відбувається за рахунок зшивання білкових молекул коагулянтами з подальшим утворенням гелевої структури. Повнота виділення білків з розчину соєвого молока залежить від ряду факторів, найважливішим з яких є рН. Як правило, його максимальне значення досягається при значенні рН, що відповідає ізоелектричній точці білка, яка залежить від співвідношення кількості карбоксильних і аміногруп у молекулі.

Для уповільненого осадження соєвого білка запропоновано вносити в проціджене соєве молоко кристалічну кухонну сіль або її водний розчин. Далі соєве молоко необхідно нагріти до температури 85—110 °С і ввести коагулянт до досягнення ізоелектричної точки білка, що знаходиться в діапазоні рН 4,4—4,5. Як коагулянти добре себе зарекомендували розчини слабких органічних кислот (оцтова, лимонна, молочна кислоти або їх суміші). Утворюється сир зі структурою, подібною до сиру моцарела.

Ключові слова: соєвий сир тофу, ізоелектрична точка білка, коагулянти, якість.

Постановка проблеми. Соя — білково-олійна культура, насіння якої використовують у багатьох сферах харчового та промислового виробництва. Унікальність сої полягає в достатньо високому вмісті білка в її бобах, що може сягати 50%. Соєві білки класифікують відповідно до їх розчинності, фізіологічної функції та швидкості відцентрової седиментації. Залежно від розчинності вони поділяються на глобулін та альбумін. За фізіологічними функціями — на запасуючий білок і біологічно активний білок. За швидкістю відцентрової седиментації — на 2S, 7S,

11S і 15S компоненти (S — коефіцієнт седиментації, де $1S = 10^{-13} \text{ c} = 1 \text{ Свед-берг}$), де кожен компонент складається з білкових молекул з подібною молекулярною масою (Li, Regenstein, Fei, & Yang, 2020).

Соеві білки складаються в основному з гліциніну з коефіцієнтом відцентрової седиментації 11S і β -конгліциніну з коефіцієнтом відцентрової седиментації 7S. Ці два білки також називають білками зберігання, вони складають приблизно 70% від загального білка сої (Gua et al., 2021; Guo et al., 2012; Shi, & Liu, 2018).

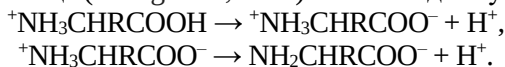
Із сої можна приготувати широкий спектр ферментованих і неферментованих продуктів харчування. Наразі найбільш доступний асортимент соєвих продуктів складається з молока, соусу та сиру, які можна придбати в більшості великих торговельних мереж.

Історична назва твердого білкового продукту з вмістом 10% білка і 80% вологи — бобовий сир тофу. У Східній Азії тофу настільки ж поширений продукт, як традиційний сир в Україні. Ця популярна альтернатива м'ясу та молочним продуктам існує вже понад 2000 років, а в останні століття тофу набув особливого розповсюдження. У сучасному світі тофу відіграє ще й важливу етичну роль, бо є повноцінною та смачною альтернативою м'ясу та сирним продуктам з молока.

Соевий сир тофу виготовляють за допомогою багатоетапного процесу, що включає відбір сирого насіння сої, замочування, подрібнення, нагрівання соєвого молока, фільтрування, додавання коагулянтів, пресування та пакування (Ali, Tian, & Wang, 2021; Chen, Hsieh, & Kuo, 2023).

Смак продукту визначається введеними добавками, а консистенція — способом ведення технологічного процесу й обраними коагулянтами. Під час процесу коагуляції агрегація соєвого білка відбувається шляхом зшивання білок—білок і білок—вода, а потім утворюються гелі з випадковою або регулярною стільниковою структурою (Agrahar-Murugkar, 2015).

Повнота виділення білків з розчину залежить від ряду факторів, найважливішим з яких є рН. Як правило, його максимальне значення досягається при значенні рН, що відповідає ізоелектричній точці білка (Cao et al., 2017; Hsiao, Yu, Li, & Hsieh, 2015; Chen et al., 2017), яка залежить від співвідношення кількості карбоксильних і аміногруп у молекулі. Ступінь іонізації різних функціональних груп змінюється при зміні рН середовища, що призводить до виділення білка з розчину. Співвідношення різних іонів залежно від ступеня іонізації функціональних груп і рН середовища (Zhang et al., 2018) можна подати у вигляді рівнянь:



Аналіз останніх досліджень і публікацій. Авторами (Wang et al., 2019; Zhang et al., 2018) досліджено, що різноманітність насіння сої, склад білка, рН, висока температура, нагрівання, різні типи коагулянтів і масштаби переробки суттєво впливають на якість кінцевого тофу. Якщо насіння сої зберігається в несприятливих умовах, таких як екстремальні значення рН і температури, вміст білка в соєвому молоці та вихід тофу знижуються (Agrahar-Murugkar, 2015; Guan et al., 2021).

Процес замочування впливає на екстракцію активних інгредієнтів соєвих бобів, а також на якість тофу. У (Agrahar-Murugkar, 2015; Cornet, van der Goot, & van der Sman, 2020) показано, що зі збільшенням температури замочування в діапазоні 30—40 °C, зменшується час екстракції активних речовин. Авторами досліджено

співвідношення води до бобів на рівні 9:1, 10:1, 11:1, 12:1, 13:1 та 14:1. Результати показали, що тофу, виготовлений у співвідношенні 9:1, був однорідним, але водянистим і м'яким. Тофу, виготовлений у співвідношенні 11:1 і 12:1, був грудкуватим і пористим. Тофу, виготовлений у співвідношенні 13:1 і 14:1, був неякісним і не міг тримати форму після нарізання.

У дослідженні (Shin, Yokoyama, Kim, Wicker, & Kim, 2015; Sun et al., 2019) показано переваги двоступеневого методу нагрівання для термічної обробки соєвого молока. Цей метод є більш придатним для ефективної денатурації соєвих білків (спочатку денатурується 7S білок, а потім 11S білок) і прискорення процесу гелеутворення порівняно з одноступеневим нагріванням. У результаті видима міцність на розрив тофу, виготовленого з використанням двоступеневого нагрівання, збільшилася на 12,2%, швидкість синерезису зменшилася на 21,8%, а фізичні властивості та вихід тофу значно покращилися.

Натепер (Li, Regenstein, Fei, & Yang, 2020) існує чотири теорії щодо механізму соль-індукованого утворення гелю тофу. Перша — це так звана теорія катіонного сольового містка, яка базується на термічно індукованому зшиванні між іонами металу та соєвим білком. Швидкість гелеутворення білка прискорюється, а також підвищується стабільність тривимірної структури гелевої сітки, що утворюється. Друга теорія ґрунтується на ефекті висолоювання термічно денатурованого соєвого білка внаслідок зневоднення після додавання солі (Wang et al., 2018). Третя теорія полягає в тому, що після додавання солі значення рН знижується до номінальної ізоелектричної точки соєвого білка (Kanauchi, Sakiko, & Shimoyamada, 2015). Четверта теорія полягає в тому, що формування білкових частинок відрізняється в присутності певних іонів металів, яка ґрунтується на першій теорії (Zhang et al., 2018). Механізм гелеутворення сольових коагулянтів, що використовуються у виробництві тофу, потребує подальших досліджень, оскільки кожна теорія не повністю пояснює всі аспекти формування гелю тофу та його результат.

Найважливішим етапом у процесі виробництва тофу є процес коагуляції (Jin et al., 2020), який передбачає вибір коагулянту. Різні типи коагулянтів можуть впливати на кінцеву якість і вихід продуктів з тофу. Загалом, коагулянти тофу поділяються на три категорії, а саме: кислоти (лимонна, молочна, винна, l(-)-яблучна та глюконова), солі (хлорид кальцію, ацетат кальцію, лактат кальцію, сульфат магнію, цитрат тримагнію), ферменти (хімозин-пепсин, папаїн, мікробна трансглютаміназа тощо), в основі яких лежить механізм коагуляції.

Метою статті є дослідження процесу уповільненого осадження білка в ізоелектричній точці з розчину соєвого молока при виробництві соєвого сиру тофу.

Матеріали і методи. Модельні розчини готували із соєвого борошна харчового, що містить 54—56% протеїну та 2% жиру. Соєвий білок на 88—95% представлений водорозчинною фракцією глобулінів (60—81%), альбумінів (8—25%), важкорозчинних глобулінів (3—27%). Кислотність розчинів регулювали розчином NaOH або HCl концентрацією 0,1 моль/л до значення рН 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 і 6,0.

Визначення ізоелектричної точки проведено за стандартною методикою виявлення помутніння розчинів білка залежно від величини рН у буферних розчинах: натрій ацетат—оцтова кислота (CH_3COONa — CH_3COOH). Для цього було приготовано буферні суміші з різними значеннями рН. До 4 мл отриманих буферних

розчинів додано по 2 мл попередньо профільтованого одновідсоткового екстракту соєвого борошна і ретельно перемішано. Потім відібрано по 1 мл отриманих сумішей і додано до кожної по 2 мл етилового спирту. Через 5 хв зафіксовано значення оптичної густини D отриманих розчинів в кюветі 1 см при довжині хвилі $\lambda=800$ нм на приладі «Specord M-40». Одержані залежності оптичної густини поглинання розчинів D від рН представлені на рис. 1.

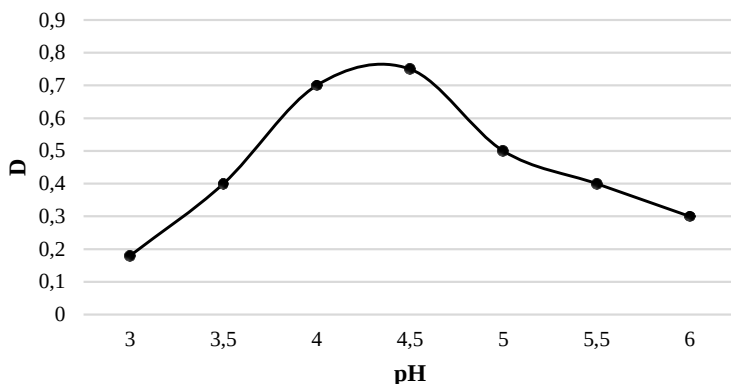


Рис. 1. Залежність оптичної густини D ($\lambda=800$ нм) водного розчину соєвого білка від рН

Викладення основних результатів дослідження. Кількісний вихід ізольованих білків залежить від ефективності екстрагування білків у розчин і повноти їх вилучення з білкових екстрактів. Найбільш доцільним є осадження з розчинів при значеннях рН екстракту, що відповідають ізoeлектричній точці.

Наведена на рис. 1 залежність має традиційний екстремальний характер, а значення ізoeлектричної точки модельного розчину соєвого білка знаходиться в межах рН 4,4—4,5. Тому для осадження доцільно використовувати слабкі розчини кислот: оцтову, молочну, лимонну кислоти або їх суміші. Для осадження білків із соєвого молока можуть бути використані також органічні розчинники (спирт, ацетон тощо), хоча токсикологічні аспекти їх впливу на якість сиру тофу не досліджені (Kamal, Ali, & Le, 2023).

Запропонований метод уповільненого осадження білка в ізoeлектричній точці ґрунтується на спеціальному складі кислотного коагулянту та використанні кристалічної кухонної солі для уповільнення процесу осадження.

Використання води надає можливість екстрагувати лише альбумінову фракцію білків, а глобулінова втрачається з окарою, тому доцільно застосовувати кристалічну кухонну харчову сіль або її водний розчин на етапі екстрагування білків із соєвого молока. Сіль також здатна сповільнювати процес коагуляції білків-глобулінів в ізoeлектричній точці, тому утворення білкового згустку відбувається повільно, без комового ефекту, що забезпечує еластичну структуру згустку.

При додаванні коагулянту температуру соєвого молока доводять до температури не нижче 90 °С, а коагулянт вносять в кількості 0,2—0,6% від маси молока. Як коагулянт добре зарекомендувала себе молочна кислота, при використанні якої знижується бобовий присмак готового продукту. При термічній обробці соєвого

молока відбувається збільшення гідрофобності та вмісту сульфгідрильних груп у білках, що сприяє агрегації білків. Тофу формується після утворення стабільної структури білкової сітки за допомогою відповідного коагулянту.

Як коагулянт використовується також суміш слабких органічних кислот у такому співвідношенні: 1—1,25 оцтової кислоти, до 1—1,23 молочної кислоти та 1—1,1 лимонної кислоти (Cao et al., 2017; Li, Regenstein, Fei, & Yang, 2020) або 9-відсотковий водний розчин оцтової кислоти і 9-відсотковий водний розчин молочної кислоти при співвідношенні 15—50%:50—85% (Zhang et al., 2018). Суміш витримується впродовж 15—20 хв для завершення коагуляції. Білковий осад, що утворюється, називають білковою пастою, її відділяють від екстракту (сироваткової води) шляхом центрифугування або пресування в перфорованій формі. Одержана паста має вологість 80% і являє собою білковий продукт типу тофу. До пасти можна додати смакові інгредієнти, наприклад морську капусту, зелень, часник тощо. Таку пасту також можна висушувати, гранулювати або текстурувати.

За органолептичними і фізико-хімічними показниками утворений соєвий сир відповідає вимогам, наведеним у табл. 1, та добре узгоджується з (Kim, 2023).

Таблиця 1. Показники якості сиру тофу

Найменування показника	Характеристика
Зовнішній вигляд і консистенція	Твердий або гелеподібний неоднорідний продукт з включеннями (за наявності у складі) харчових інгредієнтів. При зберіганні в межах терміну придатності тофу допускається виділення вологи не більше 10% від маси продукту
Смак і запах	Чистий, властивий сировині, з якої виготовлено тофу. Не допускається сторонній смак і запах
Колір	Обумовлений сортністю соєвої сировини. Тофу після заморожування жовтий
Масова частка білка, %, не менше	8,0
Масова частка жиру, %, не більше	8,0
Масова частка вологи, %, щонайменше	80,0
pH, не більше	7,3
Масова частка металодомішок	Не допускаються
Сторонні домішки	Не допускаються

Незважаючи на багатовікову історію виробництва соєвого сиру тофу, його технології продовжують розвиватися й удосконалюватись відповідно до сучасних споживчих вимог. Загалом слід відмітити збільшення частки рослинної їжі в щоденному раціоні сучасної людини. Розроблення технологій білкових продуктів триває, але очевидно, що соя є поживною та корисною частиною дієти, яка відповідає принципам здорового харчування.

Висновки

За результатами проведених досліджень для соєвого білка значення ізоелектричної точки знаходиться в межах 4,4—4,5, що визначає доцільність застосування розчинів слабких органічних кислот як коагулянтів. Запропоновано такий спосіб виробництва соєвого білкового продукту тофу: в проціджене соєве молоко вводять кристалічну кухонну сіль або її водний розчин. Потім соєве молоко нагрівають до температури 85—110 °C і вводять коагулянт до досягнення рН. Коагулянтами для осадження білкового комплексу можуть бути оцтова, лимонна, молочна кислоти або їх суміші. Далі в отриману масу з температурою не нижче 68 °C вводять сушену зелень, часник, паприку або готують тофу без них. Для відділення сироватки масу переносять у перфоровану форму, пресування має тривати щонайменше 10 хвилин. Після закінчення пресування отриманий соєвий сир охолоджують до температури 18—20 °C і піддають вакуумній упаковці.

Запропонований спосіб дає змогу одержати сир із структурою, подібною до сиру моцарела — це так званий «бавовняний» тофу. Соєвий сир, отриманий за цим способом, може зберігатися до 10 діб за температури 8—10 °C.

Література

- Agrahar-Murugkar, D. (2015). Effect of different process parameters on the quality of soymilk and tofu from sprouted soybean. *J. Food Sci. Technol.*, 52, 2886—2893. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1320-z>.
- Ali, F., Tian, K., Wang, Z.-X. (2021). Modern techniques efficacy on tofu processing: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 766—785. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.023>.
- Cao, F., Li, X., Luo, S., Mu, D., Zhong, X., Jiang, S., Zheng, Z., Zhao, Y. (2017). Effects of organic acid coagulants on the physical properties of and chemical interactions in tofu. *LWT*, 85, 58—65. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.07.005>.
- Chen, N., Zhao, M., Niepceron, F., Nicolai, T., Chassenieux, Ch. (2017). The effect of the pH on thermal aggregation and gelation of soy proteins. *Food Hydrocolloids*, 66, 27—36. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.12.006>.
- Chen, C., Hsieh, J., Kuo, M. (2023). Insight into the Processing, Gelation and Functional Components of Tofu: A Review. *Processes*, 11(1), 202. <https://doi.org/10.3390/pr11010202>.
- Cornet, S. H. V., van der Goot, A. J., & van der Sman, R. G. M. (2020). Effect of mechanical interaction on the hydration of mixed soy protein and gluten gels. *Current Research in Food Science*, 3, 134—145. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2020.03.007>.
- Guan, X., Zhong, X., Lu, Y., Du, X., Jia, R., Li, H., Zhang, M. (2021). Changes of Soybean Protein during Tofu Processing. *Foods*, 10(7), 1594. <https://doi.org/10.3390/foods10071594>.
- Guo, J., Yang, X., He, X., Wu, N., Wang, J., Gu, W., Zhang, Y. (2012). Limited aggregation behavior of β -Conglycinin and its terminating effect on glycinin aggregation during heating at pH 7.0. *J. Agric. Food Chem.*, 60, 3782—3791. <https://doi.org/10.1021/jf300409y>.
- Hsiao, Y. H., Yu, C. J., Li, W. T. and Hsieh, J. F. (2015). Coagulation of β -conglycinin, glycinin and isoflavones induced by calcium chloride in soymilk. *Sci. Rep.*, 5, 13038. <https://doi.org/10.1038/srep13018>.
- Jin, Y., Liu, L. S., Zhang, X. F., Zhang, Q., Bai, J., Guo, H., Peng, Y. J. (2020). Effects of Coagulation Temperature on Gelling Properties and Chemical Forces of Lactone Tofu. *Food Sci.*, 636, 58—64. <https://doi.org/10.7506/spkx1002-6630-20200602-027>.
- Kamal, H., Ali, A., Le, C. (2023). Green solvent processing: Effect of type of solvent on extraction and quality of protein from dairy and non-dairy expired milk products. *Food Chemistry*, 400, 133988. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133988>.

Kanauchi, M., Sakiko, H., Shimoyamada, M. (2015). New cheese-like food production from soymilk utility of soymilk curdling yeast. In A. H. A. Eissa (Ed.), *Food production and industry* (pp. 79—100).

Kim, E. (2023). Physicochemical Properties of Soybean Curd Residue Powder by Different Soybean and Drying Methods. *Journal of the Korean Society of Food Culture*, 38(5), 356—364. <https://doi.org/10.7318/KJFC/2023.38.5.356>.

Li, Z., Regenstein, J. M., Fei, T., Yang, L. (2020). Tofu products: A review of their raw materials, processing conditions, and packaging. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 19, 1—8. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12640>.

Shi, Y. G., Liu, L. L. (2018). Research progress on correlation between soybean protein and tofu quality. *J. Food Technol.*, 36, 1—8. <https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-6002.2018.06.001>.

Shin, W. K., Yokoyama, W. H., Kim, W., Wicker, L., & Kim, Y. (2015). Change in texture improvement of low-fat tofu by means of low-fat soymilk protein denaturation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(5), 1000—1007. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6780>.

Sun, D., Li, T., Ma, L., Zhang, F., Li, A., & Jiang, Z. (2019). Effect of selective thermal denaturation and glycosylation on the textural properties and microstructure of vegetable tofu. *Journal of Food Process Engineering*, 42(3), e13001. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13001>.

Wang, R., Jin, X., Su, S., Lu, Y., & Guo, S. (2019). Soymilk gelation: The determinant roles of incubation time and gelation rate. *Food Hydrocolloids*, 97, 105230. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105230>.

Wang, W., Shen, M., Liu, S., Jiang, L., Song, Q., & Xie, J. (2018). Gel properties and interactions of Mesona blumes polysaccharide-soy protein isolates mixed gel: The effect of salt addition. *Carbohydrate Polymers*, 192, 193—201. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.064>.

Zhang, Q., Wang, C. Z., Li, B. K., Lin, D. R., Chen, H. (2018). Research progress in tofu processing: From raw materials to processing conditions. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 58, 1—85. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1263823>.