

UDC 664:631:577: [635.655:664.696.3]

INFLUENCE OF EXTRACTION PARAMETERS ON THE PROPERTIES OF SUBCRITICAL WATER EXTRACTS OF SOYBEAN MEAL

Valerii O. Sukmanov¹, Olena V. Kovalchuk*²¹Poltava State Agrarian University, st. Frying pans 1/3, Poltava, 36003, Ukraine²State Biotechnological University, st. Alchevskikh, 44, Kharkiv, 63000, Ukraine

Received 23 February 2023; accepted 2 March 2023; available online 25 April 2023

Abstract

The work is devoted to the study of the process of subcritical water extraction of soybean meal and the influence of extraction parameters on the properties of liquid and dry extracts. The aim of the study is to establish the influence of the parameters of the process of subcritical water extraction (temperature: 120–160 °C, duration of extraction: 5...15 min, hydromodulus: 1 : 15...25) on the properties of liquid and dry extracts of soybean meal and their optimal values. An empirical method was used to establish the nature of the dependence of the indicators of extracts on the parameters of the extraction process. It is assumed that in the studied ranges of extraction parameters, the dependence of the extract indicators corresponds to a quadratic model. To determine the coefficients of the interpolation model, it was planned to conduct a fractional-factorial experiment 3^{3-1} on an orthogonal compositional plan of the 2nd order. Liquid extracts were obtained in a laboratory facility based on a high pressure reactor. Dry extracts were obtained by evaporation. For liquid extracts, the pH and solids content were determined. For dry extracts, the content of minerals, residual water, protein, and isoflavones was determined. Extracts were analyzed by instrumental methods in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine using modern equipment. On the basis of the results obtained, the coefficients of quadratic interpolation models were established, the analysis of which made it possible to establish the optimal extraction parameters that ensure the maximum values of the extracts. It was found that in the studied ranges of duration and temperature of extraction, the content of solids in liquid extracts and protein in dry extracts have maxima, however, their value increased monotonously with an increase in the proportion of water in the extraction mixture. The content of mineral substances had a maximum only in temperature, and isoflavones in the duration of extraction. The results obtained can be used to improve the technology for obtaining protein soy concentrates and isolates using the method of subcritical water extraction. Due to the environmental friendliness of this extraction technology, the obtained extracts can be directly used to increase the nutritional value of various food products.

Keywords: extraction; subcritical water; biologically active substances; extract; soybean meal.

ВПЛИВ ПАРАМЕТРІВ ЕКСТРАГУВАННЯ НА ВЛАСТИВОСТІ СУБКРИТИЧНИХ ВОДНИХ ЕКСТРАКТІВ СОЄВОГО ШРОТУ

Валерій О. Сукманов¹, Олена В. Ковальчук*²¹Полтавський державний аграрний університет, вул. Сквороди 1/3, м. Полтава, 36003, Україна²Державний біотехнологічний університет, вул. Алчевських, 44, м. Харків, 63000, Україна

Анотація

Робота присвячена дослідженню процесу екстрагування субкритичною водою соєвого шроту та впливу параметрів екстрагування на властивості рідких та сухих екстрактів. Метою дослідження є встановлення впливу параметрів процесу субкритичного водного екстрагування (температура: 120–160 °C, тривалість екстрагування: 5...15 хв, гідромодуль: 1 : 15...25) на властивості рідких та сухих екстрактів соєвого шроту та їх оптимальних значень. Характер залежності показників екстрактів від параметрів процесу екстрагування встановлено емпірично. Для визначення коефіцієнтів інтерполяційної моделі було заплановано проведення дробнофакторного експерименту 3^{3-1} за ортогональним композиційним планом 2-го порядку. Рідкі екстракти отримано на лабораторній установці на базі реактора високого тиску. Сухі екстракти отримували методом випарювання. Для рідких екстрактів визначали рН та вміст сухих речовин. Для сухих екстрактів визначали вміст мінеральних речовин, залишкової води, білку та ізофлавонів. Аналіз екстрактів виконували за інструментальними методами відповідно до вимог Державної фармакопеї України, із використанням сучасного обладнання. Встановлено коефіцієнти квадратичних інтерполяційних моделей, аналіз яких дозволив встановити оптимальні параметри екстрагування. Встановлено, що на досліджуваних діапазонах тривалості та температури екстрагування вміст сухих речовин у рідких екстрактах та вміст білка у сухих екстрактах мають максимуми, величина яких монотонно зростає зі збільшенням частки води в екстракційній суміші. Вміст мінеральних речовин мав максимум лише за температурою, а ізофлавонів – за тривалістю екстрагування. Отримані результати можуть бути використані при удосконаленні технології отримання соєвих білкових концентратів та ізолятів із застосуванням методу субкритичного водного екстрагування.

Ключові слова: екстрагування; субкритична вода; біологічно активні речовини; екстракт; соєвий шрот.

*Corresponding author: e-mail address: olena.vs.kovalchuk@gmail.com

© 2023 Oles Honchar Dnipro National University; doi 10.15421/jchemtech.v31i1.274376

Вступ

Соєвий шрот (СШ) є побічним продуктом виробництва соєвої олії і містить велику кількість поживних та цінних біологічно активних речовин (БАР): білки, вуглеводи, ізофлавоноїди, стерини, сапоніни, харчові волокна тощо. Виділення таких речовин, зокрема білку й ізофлавоноїдів, та збагачення ними продуктів харчування має важливе значення в процесі створення позбавлених тваринних білків повноцінних дієтичних продуктів [1], що знижують ризик розвитку ряду хвороб [2]. Зважаючи на те, що Україна є одним із значних виробників соєвої олії, зазначене використання СШ потенційно може мати більший за звичне використання СШ як концентрованого корму економічний ефект.

Одним із перспективних сучасних видів екстрагування широкого кола харчових речовин із рослинної сировини є субкритична водна (СКВ) екстракція. Вона передбачає проведення екстрагування за підвищеної (100...374 °C) температури та надлишкового тиску (до 22.4 МПа). У субкритичному стані знижується в'язкість та зростає коефіцієнт дифузії води разом зі збереженням її високої розчинюючої здатності [3]. Зниження діелектричної константи та полярності приводить до більшої розчинності неполярних речовин, збільшення масопередачі та посилення властивостей води як розчинника [4]. За таких властивостей вода в субкритичному стані є відмінним екстрагентом, що поєднує у собі екологічність та низьку вартість [5].

Високу ефективність СКВ екстракції для вилучення різних БАР з рослинної сировини засвідчують численні результати досліджень, узагальненню яких присвячено огляди [4–6]. У ряді робіт показана ефективність СКВ екстрагування поліфенолів із різної рослинної сировини: з яблучних вичавок [7], знежирених апельсинових шкірок [3], з лушпиння цибулі [8], виноградних вичавок [9], водоростей [10], соєвої окари [11–13].

СКВ екстрагування поліфенолів та вуглеводів із соєвої окари на діапазоні температур 160...230 °C за тривалості 10 хв досліджено у [11], де отримано ріст виходу поліфенолів до 220 °C із подальшим зниженням. Однак у сучасніших роботах [12; 13] у діапазоні 120...160 °C максимум виходу поліфенолів із соєвої окари отримано за суттєво нижчої температури – 146.23 °C, за тривалості \approx 214 хв. Для діапазону

температур 20...95 °C у [14] показано відсутність впливу температури на вихід поліфенолів в процесі екстрагування соєвої окари.

Значна температурна стійкість поліфенолів [15] дозволяє проводити процес СКВ екстрагування за високих температур. Однак білки за підвищених температур можуть деградувати через гідроліз та реакцію Майяра. Остання в процесі СКВ екстрагування є негативним явищем, натомість гідроліз білків може бути використаний для отримання амінокислот із відходів агарного виробництва [6], наприклад, з пір'я [16] та панцирів крабів [17]. Також СКВ обробка дозволяє покращити властивості білків, наприклад розчинність та піноутворення зеїнових білків [18] і біодоступність рослинного білку [19] через руйнування інгібіторів протеїназ.

У ряді робіт для різних видів сировини встановлено зростання виходу білку до екстракту за підвищених температур СКВ екстрагування. У роботі [20] для знежирених рисових висівок максимальний вміст білку в СКВ екстрактах отримано за 200 °C, а у роботі [21] для соєвої окари – за 260 °C. Для СШ у роботі [22] максимальний вихід білку в процесі СКВ екстрагування отримано за параметрів: 200 °C, 30 хв, 1 : 5, а в роботі [23] за – 225 °C, 5 хв. У [24] на діапазоні температур 66...234 °C отримано постійний ріст вмісту білку в екстракті. Однак у [25] для соєвої окари вже за 80 °C та у [26] для яєчних білків на діапазоні 90...120 °C виявлено погіршення розчинності через агрегацію білкових молекул. Також наведені у [23] фото показують, що за температури >175 °C екстракти СШ мають темно-коричневий колір внаслідок інтенсивного протікання реакції Майяра, що вказує на недоцільність екстрагування білку із СШ за вищих температур.

Наведене вище показує, що на даний час проводиться інтенсивна наукова розробка СКВ екстрагування як ефективного методу вилучення БАР з аграрної сировини різного походження. Однак недостатньо дослідженим залишається вплив параметрів СКВ екстрагування на властивості екстрактів СШ та їх оптимальні значення, що є важливим та актуальним для харчової промисловості.

Метою даного дослідження є встановлення впливу параметрів процесу екстрагування субкритичною водою (температура: 120...160 °C, тривалість екстрагування: 5...15

хв, гідромодуль: 1 : 15...25) на властивості рідких та сухих екстрактів соєвого шроту та їх оптимальні значення.

У роботах [27] та [28] авторами висвітлені результати першого повтору експериментальних досліджень залежностей вмісту ізофлавонів та білку в СКВ екстрактах СШ від температури, тривалості процесу екстрагування та гідромодуля екстракційної суміші. У цій роботі наведено результати повного циклу досліджень впливу параметрів екстрагування на властивості СКВ екстрактів СШ: рН, вміст сухих речовин, золи, залишкової води, білку та ізофлавонів.

Експериментальна частина

Матеріали та обладнання. У якості зразків для дослідження використовували СШ виробництва ООО Глобинський переробний завод (м. Глобино, Полтавська обл., Україна). Екстрагент – дистильована вода. Екстракти отримували на лабораторному реакторі високого тиску РВД-2-500 (НПП «УКРОРГСИНТЕЗ», м. Київ, Україна) з магнітною мішалкою з підігрівом платформи РІВА – 04.3 (НПО «Оргсинтез», Україна) та компресором високого тиску «РСР ELECTRIC AIR» (Китай), аналогічно [8]. Екстракт відділяли від твердого залишку методом

вакуумної фільтрації із використанням насосу Камовського, колби Бунзена, фільтр-паперу марки Ф (чорна стрічка). Екстракти висушували із використанням сушильної шафи Memmert UF 30.

Для аналізу екстрактів використовували: рН-метр SevenCompact pH/Ion S220, аналітичні ваги XPE105 Mettler Toledo, електронні ваги XPR6002SDR/A, сушильну шафу Memmert UF 30, муфельну піч Nabertherm LT5/12, титратор автоматичний Excellence T5, аналізатор TOC-L CSH з приставкою TNM-L для визначення загального органічного вуглецю та азоту, аплікатор ТШХ Nanomat 4 та спектрофотометр UV-1800.

План експерименту. У якості досліджуваних параметрів процесу СКВ екстрагування СШ, що впливають на досліджувані властивості екстракту (рН, вміст сухих речовин, золи, білку та ізофлавонів) були обрані: температура процесу (T), тривалість екстрагування (t) та гідромодуль ($1:C_w$) екстракційної суміші. Зроблено припущення, що на досліджуваних діапазонах параметри екстрагування пов'язані із показниками екстракту (Y) у межах квадратичної інтерполяційної моделі:

$$Y = b_{n0} + b_{n1}T + b_{n2}t + b_{n3}C_w + b_{n4}T^2 + b_{n5}t^2 + b_{n6}C_w^2 + [b_{n7}Tt \vee b_{n7}TC_w \vee b_{n7}tC_w], \quad (1)$$

де b_{n0}, \dots, b_{n7} – коефіцієнти моделі для натуральних значень факторів.

Модель (1) містить вісім незалежних коефіцієнтів, що враховують основні лінійні та квадратичні ефекти впливу факторів і один із парних ефектів їх взаємодії. Остаточний вигляд моделі для кожної характеристики

екстракту було встановлено за результатами статистичної оцінки вагомості ефектів.

Для визначення невідомих коефіцієнтів рівнянь (1) було заплановано проведення дробнофакторного експерименту 3^{3-1} за ортогональним композиційним планом 2-го порядку (табл. 1).

Experimental plan for factors in natural and normalized form

Table 1

План експерименту для факторів у натуральному й нормованому вигляді

Таблиця 1

№ досл.	Фактори процесу					
	в натуральному вигляді			у кодованому та нормованому вигляді		
	$T, ^\circ C$	$t, хв$	C_w^*	X_1	X_2	X_3
1	120	5	15	-1	-1	-1
2	120	10	25	-1	0	+1
3	120	15	20	-1	+1	0
4	140	5	25	0	-1	+1
5	140	10	20	0	0	0
6	140	15	15	0	+1	-1
7	160	5	20	+1	-1	0
8	160	10	15	+1	0	-1
9	120	5	15	+1	+1	+1

Згідно з прийнятим типом експерименту натуральними значеннями факторів такими значення кодованих факторів пов'язані із залежностями

$$X_1 = (T - T_m) / \Delta T, \quad X_2 = (t - t_m) / \Delta t, \quad X_3 = (C_w - C_{wm}) / \Delta C_w, \quad (2)$$

де $\Delta T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$, $\Delta t = 5 \text{ хв}$, $\Delta C_w = 5$ – інтервали варіювання факторів у натуральному вигляді; $T_m = 140 \text{ }^\circ\text{C}$, $t_m = 140 \text{ }^\circ\text{C}$, $\Delta C_{mw} = 20$ – середні значення факторів.

Підготовка зразків та методика проведення дослідження. Для СКВ екстрагування вихідну сировину (СШ) подрібнювали механічним методом і проводили розділення на фракції. Для проведення дослідів використовували фракцію 0.5...1 мм. Масу наважки відібраної фракції розраховували для кожного досліду з урахуванням визначеної вологості СШ для отримання необхідного гідромодуля.

Підготовлені для екстрагування наважки СШ заливали гарячою дистильованою водою ($\approx 95 \text{ }^\circ\text{C}$) у лабораторній тарі, перемішували до рівномірного змочування частинок і відразу встановлювали до камери реактору.

Екстрагування проводили за сталого надлишкового тиску ($10 \pm 1 \text{ МПа}$) та постійного перемішування магнітною мішалкою (700 хв^{-1}). Вміст реактору нагрівався термоблоком до цільового значення температури T і після витримки протягом заданого часу t , вимикався. Суміш у реакторі охолоджувалась природнім чином до $\approx 95 \text{ }^\circ\text{C}$, після чого її вилучали й відділяли рідкий екстракт від твердого залишку методом вакуумної фільтрації. Відділений рідкий екстракт природнім чином охолоджувався до кімнатної температури.

Отримані екстракти відрізнялись за кольором, який змінювався від кремового, для зразків отриманих за температури $120 \text{ }^\circ\text{C}$, до темно-коричневого – за температури $160 \text{ }^\circ\text{C}$. Насиченість кольору також зростала зі збільшенням тривалості процесу. Для зразків, отриманих за температури $160 \text{ }^\circ\text{C}$, також відмічено запах горілого, що свідчить про накопичення продуктів реакції Майяра.

У роботі [23] СКВ екстрагування здійснювалось за вищих температур (до $250 \text{ }^\circ\text{C}$), а інтенсивний коричневий колір екстрактів спостерігався лише за температур $>175 \text{ }^\circ\text{C}$. Таку відмінність інтенсивності реакції Майяра можна пояснити меншою тривалістю екстрагування та різким охолодженням реактору, про що окремо зазначено у роботі.

Водночас отримані у цьому дослідженні результати, як і результати в [23], вказують на існування гранично припустимої температури СКВ екстрагування з точки зору якості отриманого екстракту й залежність такої температури від тривалості процесу.

Кожен дослід запланованого експерименту виконували у трьох повторах. Отримані рідкі екстракти зберігали у замороженому вигляді до моменту закінчення всього обсягу досліджень. У подальшому частину рідкого екстракту з кожного досліду відбирали для аналізу, решту висушували у шафі Memmert UF 30 ($105 \text{ }^\circ\text{C}$, 36 год), до отримання сухого залишку постійної маси.

Характеристики рідких і сухих СКВ екстрактів СШ та методики їх визначення. Для рідких екстрактів визначали показник рН та вміст сухих речовин (ВСР). Сухі екстракти аналізували на вміст золи (ВЗ), залишковий вміст води (ВВ), вміст білку (ВБ) та вміст суми ізофлавонів (ВІ). Вміст залишкової води визначався не як цільовий показник екстракту, а для подальшого визначення показників ВБ та ВІ.

Показники екстрактів визначали згідно вимог Державної фармакопеї України [29]. Застосовані методики та обладнання наведені у табл. 2.

Table 2

Methods and equipment for determining the indicators of extracts

Таблиця 2

Методи та обладнання для визначення показників екстрактів

Показник <i>pH</i>	[29] 2.2.3; рН-метр SevenCompact pH/Ion S220.
Вміст сухих речовин	[29] 2.8.16; аналітичні ваги XPE105 Mettler Toledo, суш. шафа Memmert UF 30.
Масова частка золи	[29] 2.4.16; XPE105 Mettler Toledo, Memmert UF 30, муф. піч Nabertherm LT5/12.
Вміст залишкової води	[29] 2.5.12 – метод кулонометричного титрування по Карлу Фішеру; XPE105 Mettler Toledo, титратор автоматичний Excellence T5
Вміст білку	[29] 2.5.33 – метод каталітичного окиснення з хемілюмінесцентним детектуванням; аналізатор TOC-L CSH з приставкою TNM-L.
Вміст ізофлавонів	[29] 2.2.25 – метод абсорбційної спектrophотометрії в ультрафіолетовому та видимому діапазоні; XPE105 Mettler Toledo, електронні ваги XPR6002SDR/A, аплікатор ТШХ Nanomat 4, спектrophотометр UV-1800.

Методика визначення вмісту сухих речовин. До попередньо зваженого (m_1) плоскодонного бюкса діаметром 50 мм і заввишки близько 30 мм поміщали наважку 2.0000 г рідкого екстракту, після чого бюкс із зразком зважували (m_2). Зразок випарювали до сухого стану на водяній бані й висушували за температури 100...105 °C протягом 3 год у сушильній шафі. Зразок охолоджували у ексикаторі над оксидом фосфору (V) або безводним силікагелем і зважували (m_3).

Вміст сухих речовин $C_{d,m}$ зразка рідкого екстракту визначали за формулою:

$$C_{d,m} = (m_3 - m_1) / (m_2 - m_1) \cdot 100, \% \quad (3)$$

Методика визначення масової частки золи. Порцеляновий тигель прожарювали протягом 30 хв у муфельній печі, охолоджували у ексикаторі та зважували (m_1). До підготовленого тигля поміщали 1.0000 г порошку сухого екстракту і рівномірно розподіляли на дні тигля, після чого тигель зі зразком зважували (m_2). Далі тигель зі зразком висушували за температури 100...105 °C протягом 1 год, після чого декілька разів прожарювали у муфельній печі за температури 600±25 °C до сталої маси (m_3).

Після кожного прожарювання тигель охолоджували в ексикаторі. Під час прожарювання у тиглі не допускали появи полум'я. Якщо після тривалого спалювання зола містила темні частинки, вміст тигля переносили гарячою водою на беззолний фільтр і спалювали залишок на фільтрі разом з фільтрувальним папером. Фільтрат об'єднували з золою, випарювали до сухого залишку і відпалювали до сталої маси.

Вміст золи у зразку шроту визначали за формулою:

$$C_{a,e} = (m_3 - m_1) / (m_2 - m_1) \cdot 100, \% \quad (4)$$

Методика визначення вмісту залишкової води. Наважку, 0.г здрібненого на тонкий порошок сухого екстракту, змішували із сумішшю розчинників: безводного метанолу та формаміду (50 : 50) з температурою 45±5 °C і суспензували протягом 5 хв. Далі вимірювали вміст води ($W_{d,e}$) із використанням автоматичного титратора.

Методика визначення вмісту білку. Для аналізу готували випробуваний розчин досліджуваного сухого екстракту СШ та три розчини порівняння.

Для приготування випробовуваного розчину наважку сухого екстракту масою m (≈100.0 мг) поміщали у термостійку мірну колбу місткістю 100 мл та обережно

суспензували у 5.0 мл сульфатної кислоти (так, щоб часточки екстракту були покриті сульфатною кислотою та не прилипали до стінок колби вище рівня кислоти). Колбу разом із вмістом нагрівали на киплячій водяній бані протягом 15 хв, після чого до вмісту колби обережно, по краплям додавали концентрований розчин гідроген пероксиду до розчинення частинок екстракту та знебарвлення одержаного розчину. У подальшому розчин охолоджували і обережно змішували з 60 мл води, знову охолоджували і доводили об'єм розчину до позначки водою та перемішували.

У якості розчинів порівняння використовували розчини кофеїну різної концентрації із відомим вмістом азоту. Для їх приготування розраховану масу кофеїну (розчин 1 – 43.3 мг, розчин 2 – 86.7 мг, розчин 3 – 173,3 мг), висушеного за температури 105 °C протягом 1 год, поміщали у мірну колбу місткістю 500 мл і розчиняли у 300 мл води, доводили до позначки тим самим розчинником і перемішували. Концентрація азоту (C_N) у розчинах порівняння: $C_N = 26.52, 51.65, 100.1$ мг/л, відповідно.

Визначення вмісту загального азоту проводили на аналізаторі визначення загального органічного вуглецю з приставкою для визначення загального азоту з каталітичним окисненням і хемілюмінесцентним детектуванням.

У ході аналізу розчини порівняння та випробовуваний розчин по 50 мкл інжектувались однаково кількість разів ($n = 8$) до вимірювальної комірки аналізатора, де проходить вимірювання електропровідності вихідного розчину та розчину після окиснення під дією жорсткого ультрафіолету. Аналізатор у автоматичному режимі визначає площі піків графіків для кожної інжекції й розраховує їх середнє значення $S_{gr,m}$. Для кожної інжекції визначається відносне стандартне відхилення (RSD). Для кількості інжекцій $n = 8$ значення RSD (%) не має перевищувати 1.69.

На основі значень $S_{gr,m}$ та C_N для розчинів порівняння отримали рівняння стандартної кривої як лінійну регресію отриманих даних:

$$C_N = 0,1554352653S_{gr,m} - 2,101182891. \quad (5)$$

Із використанням (5) на основі результатів аналізу випробовуваних розчинів екстракту, за одержаними значеннями $S_{gr,m}$, отримували значення концентрації азоту C_N . За

значеннями C_N визначали вміст білку у зразках екстрактів:

$$C_{p.e} = k_p 1000 C_N / (100m - mW_{d.e}), \% \quad (6)$$

де m – маса наважки сухого екстракту США, мг; $W_{d.e}$ – вміст води у наважці, %; k_p – коефіцієнт перерахунку вмісту азоту на білок ($k_p = 6.25$ згідно з ДСТУ 7169:2010).

Методика визначення вмісту ізофлавонів. Порошок сухого екстракту просіювали крізь сито номер 180 для видалення крупних частинок і з отриманої фракції формували наважки масою m (≈ 80.0 мг). Наважку екстракту засипали до круглодонної колби місткістю 100 мл, додавали 60 мл води і нагрівали протягом 30 хв на водяній бані. Після цього розчин охолоджували під проточною водою і переносили до мірної колби місткістю 100.0 мл. Круглодонну колбу ополіскували водою і промивні води переносили у мірну колбу й доводили об'єм розчину водою до позначки. Розчин перемішували й фільтрували крізь мембранний PTFE (політетрафторетилен) гідрофільний фільтр діаметром 25 мм з розміром пор 0.45 мм, відкидаючи перші 5 мл фільтрату.

Фільтрат у обсязі 2.0 мл заливали до мірної колби місткістю 25 мл і додавали 1.0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву та 10.0 мл води. Об'єм розчину доводили до позначки розчином натрію карбонату (290 г/л) та перемішували. Через 30 хв після приготування вимірювали оптичну густину (A) розчину за довжини хвилі світла 762 нм, використовуючи як компенсаційний розчин воду.

Як розчин порівняння використовували розчин галоївої кислоти. Для його приготування наважку галоївої кислоти масою m_0 (≈ 75.0 мг) поміщали у мірну колбу місткістю 100.0 мл і розчиняли у 70 мл води. Доводили об'єм до позначки, після чого 5.0 мл розчину поміщали у мірну колбу місткістю 100.0 мл. Розчин змішували з 60.0 мл води і доводили об'єм до позначки та перемішували.

Одержаний розчин в об'ємі 2.0 мл заливали до мірної колби місткістю 25.0 мл і додавали 1.0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву та 10.0 мл води. У подальшому об'єм розчину доводили до позначки розчином натрію карбонату (290 г/л) та перемішували. Через 30 хв після приготування розчину вимірювали його оптичну густину (A_0) за довжини хвилі 762 нм.

Суму ізофлавонів визначали у перерахунку на безводну галоїву кислоту:

$$C_{if.e} = (A_s m_0 C_{h.a} (100 - W_{h.a})) / (20 A_0 m (100 - W_{d.e})) \quad (7)$$

де A_s , A_0 – оптична густина випробовуваного розчину та розчину порівняння, відповідно; m_0 – маса наважки галоївої кислоти, мг; m – маса наважки екстракту, мг; $C_{h.a}$ – вміст основної речовини у галоївій кислоті (99.71 %); $W_{h.a}$ – вміст води у галоївій кислоті, %; $W_{d.e}$ – вміст води у наважці зразка, %.

Для кожного зразку екстракту всі типи аналізів виконували у двох повторах і як результат аналізу приймали середнє арифметичне значення отриманих величин показника. Середні, за повторами експерименту, значення отриманих показників екстрактів наведені у табл. 3.

Table 3

Analysis results of liquid and dry SCW extracts of soybean meal

Таблиця 3

Результати аналізу рідких та сухих СКВ екстрактів США

№ досл.	Параметри процесу			Характеристики екстракту					
	$T, ^\circ\text{C}$	$t, \text{хв}$	C_w^*	Рідкі екстракти			Сухі екстракти		
				pH	ВСР	ВЗ	ВВ	ВБ	ВІ
				од.	$C_{d.m.j}, \%$	$C_{a.e.j}, \%$	$W_{d.e.j}, \%$	$C_{p.e.j}, \%$	$C_{if.e.j}, \%$
1	120	5	15	6.36	3.69	8.01	0.73	40.60	1.61
2	120	10	25	6.40	2.47	7.42	0.73	43.05	1.35
3	120	15	20	6.35	2.76	9.39	0.66	39.37	1.22
4	140	5	25	6.31	2.69	7.47	0.85	48.59	1.65
5	140	10	20	6.29	3.51	8.90	1.25	46.86	1.61
6	140	15	15	6.00	4.40	9.22	0.98	39.91	2.15
7	160	5	20	5.58	3.59	8.35	1.13	43.03	2.84
8	160	10	15	5.45	4.40	8.79	1.07	42.40	3.50
9	120	5	15	5.29	2.93	9.49	1.20	40.76	3.12
	$\sum \sigma_i^2 \times 10^{-2}$			6.1400	8.8843	26.1318	-	864.3653	0.1335
	$\sigma^2 \times 10^{-2}$			0.6822	0.9871	2.9035	-	96.0406	0.0148
	$\sigma_{i\max}^2 \times 10^{-2}$			2.2800	3.5930	9.8857	-	179.8627	0.0380

Статистична оцінка отриманих результатів виконувалась із довірчим інтервалом $p = 0.95$. Оцінка відтворюваності повторних дослідів виконувалась перевіркою однорідності дисперсій за G-критерієм Кохрена. Придатність дослідних даних у паралельних дослідах перевірялась за відповідністю відхилень результатів нормальному розподілу за t-критерієм Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Із використанням значень табл. 3 методом найменших квадратів були визначені коефіцієнти інтерполяційних моделей (1)

залежностей досліджуваних показників рідких та сухих СКВ екстрактів СШ від параметрів процесу екстрагування. Коефіцієнти моделей визначали для трьох варіантів змішаних ефектів ($b_{n7}Tt \vee b_{n7}TC_w \vee b_{n7}tC_w$) і перевіряли значущість отриманих коефіцієнтів моделей за t-критерієм Стьюдента та відкидали малозначущі. Остаточний вигляд моделей, а також отримані шляхом їх математичного аналізу максимальні значення та відповідні параметри наведені у табл. 4. Адекватність моделей перевіряли за F-критерієм Фішера.

Table 4
Experimental empirical dependence of the SCW characteristics of soybean meal extracts on the parameters of the extraction process

Таблиця 4

Дослідні емпіричні залежності характеристик СКВ екстрактів СШ від параметрів процесу екстрагування

Показник pH	$-6,6233 + 1,8325 \cdot 10^{-1}T + 3,1667 \cdot 10^{-2}t + 0,1680C_w - 7,3750 \cdot 10^{-4}T^2 - 2,60 \cdot 10^{-3}t^2 - 4,20 \cdot 10^{-2}C_w^2$
Максимальне значення	$pH_{\max} = 6,54$; $T_0 = 124,24^\circ C$; $t_0 = 6,09 \text{ хв}$; $C_{w0} = 20,0$
ВСР $C_{d,m}$	$-5,2790 + 1,7726 \cdot 10^{-1}T + 0,0928t - 3,7763 \cdot 10^{-1}C_w - 5,7375 \cdot 10^{-4}T^2 - 0,4640 \cdot 10^{-2}t^2 + 0,5780 \cdot 10^{-2}C_w^2$
Максимальні значення залежно від C_w	$C_{d,m,\max}(C_w) = 8,8759 - 0,3776C_w + 0,5780 \cdot 10^{-2}C_w^2$; $T_0 = 154,47^\circ C$; $t_0 = 10,0 \text{ хв}$
Максимальне значення	$C_{d,m,\max} = 4,51\%$; $T = 154,47^\circ C$; $t = 10,0 \text{ хв}$; $C_w = 15$
ВЗ $C_{a,e}$	$-12,3713 + 0,2312T - 0,3713t + 0,5710C_w - 0,7717 \cdot 10^{-3}T^2 + 0,1143 \cdot 10^{-1}t^2 - 0,1919 \cdot 10^{-1}C_w^2 + 0,1425 \cdot 10^{-1}tC_w$
Максимальні значення залежно від t	$C_{a,e,\max}(t) = 9,1935 - 0,1592t + 0,1407 \cdot 10^{-1}t^2$, $T_0 = 149,80^\circ C$; $C_{w0} = 14,8758 + 0,3713t$
Максимальне значення	$C_{a,e,\max} = 9,97\%$; $T = 149,81^\circ C$; $t = 15,0 \text{ хв}$; $C_w = 18,58$
ВБ $C_{p,e}$	$-151,6020 + 2,5355T + 1,2412t + 1,1789C_w - 8,9613 \cdot 10^{-3}T^2 - 8,2380 \cdot 10^{-2}t^2 - 2,1560 \cdot 10^{-2}C_w^2$
Максимальні значення залежно від C_w	$C_{p,e,\max}(C_w) = 32,4188 + 1,1789C_w - 2,1560 \cdot 10^{-2}C_w^2$; $T_0 = 141,47^\circ C$; $t_0 = 7,53 \text{ хв}$
Максимальне значення	$C_{p,e,\max} = 48,42\%$; $T = 141,47^\circ C$; $t = 7,53 \text{ хв}$; $C_w = 25$
ВІ $C_{if,e}$	$24,2752 - 2,8457 \cdot 10^{-1}T + 5,6500 \cdot 10^{-2}t - 5,7907 \cdot 10^{-1}C_w + 1,1733 \cdot 10^{-3}T^2 - 2,1667 \cdot 10^{-3}t^2 + 1,3533 \cdot 10^{-2}C_w^2$
Максимальні значення залежно від T, C_w	$C_{if,e,\max}(T, C_w) = 24,6436 - 2,8457 \cdot 10^{-1}T - 5,7907 \cdot 10^{-1}C_w + 1,1733 \cdot 10^{-3}T^2 + 1,3533 \cdot 10^{-2}C_w^2$; $t_0 = 13,04 \text{ хв}$
Максимальне значення	$C_{if,e,\max} = 2,96\%$; $T_0 = 160^\circ C$; $t_0 = 13,04 \text{ хв}$; $C_w = 21,39$

На рис. наведено поверхні залежностей ВСР, ВЗ, ВБ та ВІ в залежності від температури та тривалості процесу екстрагування для значень гідромодулів, яким відповідають їх максимуми. Наведені поверхні демонструють, що максимуми показників ВСР та ВБ знаходяться в межах досліджуваних діапазонів тривалості t та температури T екстрагування, однак залежать від частки

води C_w у екстракційній суміші. Натомість значення показників ВЗ та ВІ показують монотонне зростання зі збільшенням t та T . Однак, якщо показник ВЗ показав більш інтенсивне зростання зі збільшенням t екстрагування, то ВІ мало змінювався зі зростанням цього параметру, але значно зростав зі збільшенням T .

Важливо відмітити зниження ВБ як зі збільшенням тривалості процесу екстрагування так і за збільшення температури понад ті, що відповідають

отриманому максимуму. Таке явище очевидно пов'язано з погіршенням розчинності білків через денатурацію та застосований спосіб фільтрації екстракту.

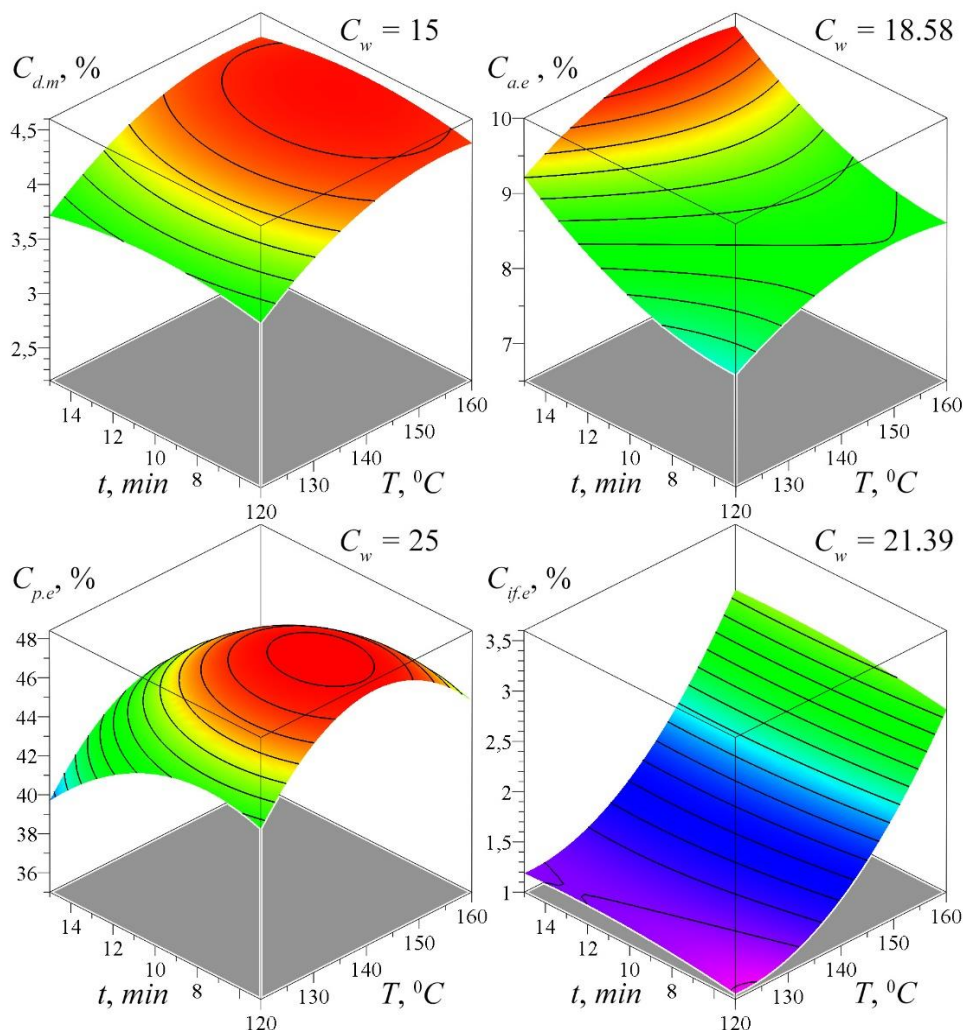


Fig. Experimental dependences of DMC, AC, PC, IC in SWE extracts of soybean meal on the duration and temperature of the process for different values of the hydromodulus

Рис. Дослідні залежності ВСП, ВЗ, ВБ, ВІ у СКВ екстрактах СШ від тривалості та температури процесу для різних значень гідромодуля

Висновки

Експериментально отримано емпіричні залежності ряду показників рідких та сухих СКВ екстрактів СШ від параметрів процесу екстрагування (температура, тривалість, гідромодуль). Із використанням отриманих інтерполяційних моделей досліджено вплив параметрів процесу екстрагування на рН, вміст сухих речовин, золи, залишкової води,

білку та суми ізофлавонів та встановлено значення параметрів, за яких досягаються максимальні значення зазначених показників (табл. 4).

Отримані результати можуть бути використані для удосконалення технології отримання соєвого білкового концентрату та ізоляту із застосуванням методу СКВ екстрагування.

References

- [1] Qin, P., Wang, T., Luo, Y. (2022). A review on plant-based proteins from soybean: Health benefits and soy product development. *J. Agric. Food Res.*, 7, 100265. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100265>
- [2] Zaheer, K., Humayoun Akhtar, M. (2017). An updated, review of dietary isoflavones: Nutrition, processing, bioavailability and impacts on human health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 57(6), 1280–1293. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.989958>

- [3] Lachos-Perez, D., Baseggio, A. M., Mayanga-Torres, P. C., Maróstica, M. R., Rostagno, M. A., Martínez, J., Forster-Carneiro, T. (2018) Subcritical water extraction of flavanones from defatted orange peel. *J. Supercrit. Fluids*, 138, 7–16. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.03.015>
- [4] Zhang, J., Wen, C., Zhang, H., Duan, Y., Ma, H. (2020). Recent advances in the extraction of bioactive compounds with subcritical water: A review. *Trends Food Sci. Technol.*, 95, 183–195. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.11.018>
- [5] Cheng, Y., Xue, F., Yu, S., Du, S., Yang, Y. (2021). Subcritical Water Extraction of Natural Products. *Molecules*, 26, 4004. <https://doi.org/10.3390/molecules26134004>
- [6] Álvarez-Viñas, M., Rodríguez-Seoane, P., Flórez-Fernández, N., Dolores Torres, M., Díaz-Reinoso, B., Moure, A., Domínguez, H. (2021). Subcritical Water for the Extraction and Hydrolysis of Protein and Other Fractions in Biorefineries from Agro-food Wastes and Algae: a Review. *Food Bioprocess Technol.*, 14, 373–387. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02536-4>
- [7] Ibrahim, S., Santos, R., Bowra, S. (2018) Optimization of Subcritical Water Mediated Extraction of Apple Pomace Polyphenolics and their Antioxidant Activity. *J. Chromatogr Sep Tech*, 9(5), 1000410. <https://doi.org/10.4172/2157-7064.1000410>
- [8] Sukmanov, V. A., Suprun, A. V. (2021). [Extraction of biologically active substances from onion peel with the subcritical water in a static mode]. *Journal of Chemistry and Technologies*, 29(2), 265–278 (in Ukrainian). <https://doi.org/10.15421/jchemtech.v29i2.225749>
- [9] Sukmanov, V., Ukrainets, A., Zavyalov, V., Marynin, A. (2017). Research of extraction of biologically active substances from grape pomace by subcritical water. *East.-Eur. J. Enterp. Technol.*, 5(11–89), 70–80. <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2017.108992>
- [10] Park, J.-S., Han, J.-M., Surendhiran, D., Chun, B.-S. (2022). Physicochemical and biofunctional properties of sargassum thunbergii extracts obtained from subcritical water extraction and conventional solvent extraction. *J. Supercrit. Fluids*, 182, 105535. <http://doi.org/10.1016/j.supflu.2022.105535>
- [11] Sun, H., Yuan, X., Zhang, Z., Su, X., Shi, M. (2018). Thermal Processing Effects on the Chemical Constituent and Antioxidant Activity of Okara Extracts Using Subcritical Water Extraction. *J. Chem.*, 2018, 6823789. <https://doi.org/10.1155/2018/6823789>
- [12] Nkurunziza, D., Pendleton, P., Chun, B. (2019). Optimization and kinetics modeling of okara isoflavones extraction using subcritical water. *Food Chem.*, 295, 613–621. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.129>
- [13] Nkurunziza, D., Pendleton, P., Sivagnanam, S., Park, J.-S., Chun, B. (2019). Subcritical water enhances hydrolytic conversions of isoflavones and recovery of phenolic antioxidants from soybean byproducts (okara). *J. Ind. Eng. Chem.*, 80(25), 696–703. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2019.08.044>
- [14] Jankowiak, L., Kantzas, N., Boom, R., van der Goot, A.J. (2014). Isoflavone extraction from okara using water as extractant. *Food Chem.*, 160, 371–378. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.082>
- [15] Stintzing, F. C., Hoffmann, M., Carle, R. (2006). Thermal degradation kinetics of isoflavone aglycones from soy and red clover. *Mol. Nutr. Food Res.*, 50(4–5), 373–380. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200500187>
- [16] Di Domenico Ziero, H., Ampese, L. C., Sganzerla, W. G., Torres-Mayanga, P. C., Timko, M. T., Mussatto, S. I., Forster-Carneiro, T. (2022). Subcritical water hydrolysis of poultry feathers for amino acids production. *J. Supercrit. Fluids*, 181, 105492. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105492>
- [17] Rodrigues, L. A., Matias, A. A., Paiva, A. (2021). Recovery of antioxidant protein hydrolysates from shellfish waste streams using subcritical water extraction. *Food Bioprod. Process.*, 130, 154–163. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.09.011>
- [18] Zhang, J., Wen, C., Zhang, H., Zandile, M., Luo, X., Duan, Y., Ma, H. (2018) Structure of the zein protein as treated with subcritical water. *Int. J. Food Prop.*, 21(1), 128–138. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1414839>
- [19] S'a, A., Moreno, Y., Carciofi, B. (2020) Food processing for the improvement of plant proteins digestibility. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 60(20), 3367–3386. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1688249>
- [20] Sereewatthanawut, I., Prapintip, S., Watchiraruji, K., Goto, M., Sasaki, M., Shotipruk, A. (2008). Extraction of protein and amino acids from deoiled rice bran by subcritical water hydrolysis. *Bioresour. Technol.*, 99(3), 555–561. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.030>
- [21] Wiboonsirikul, J., Mori, M., Khuwijitjaru, P., Adachi, S. (2013). Properties of Extract from Okara by Its Subcritical Water Treatment. *Int. J. Food Prop.*, 16(5), 974–982. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.074>
- [22] Watchararuji, K., Goto, M., Sasaki, M., Shotipruk, A. (2008). Value-added subcritical water hydrolysate from rice bran and soybean meal. *Bioresour. Technol.*, 99(14), 6207–6213. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.021>
- [23] Khuwijitjaru, P., Anantanasuwong, S., Adachi, S. (2011). Emulsifying and Foaming Properties of

- Defatted Soy Meal Extracts Obtained by Subcritical Water Treatment. *Int. J. Food Prop.*, 14(1), 9-16. <https://doi.org/10.1080/10942910903112118>
- [24] Ndlela, S. C., de Moura, J. M. L. N., Olson, N. K., Johnson, L. A. (2012). Aqueous Extraction of Oil and Protein from Soybeans with Subcritical Water. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 89(6), 1145–1153. <https://doi.org/10.1007/s11746-011-1993-7>
- [25] Ma, C.-Y., Liu, W.-S., Kwok, K. C., Kwok, F. (1996). Isolation and characterization of proteins from soymilk residue (okara). *Food Research International*, 29(8), 799–805. [https://doi.org/10.1016/0963-9969\(95\)00061-5](https://doi.org/10.1016/0963-9969(95)00061-5)
- [26] Chang, K., Jiang, W., Liu, J. (2022). Effect of subcritical water treatment on the structure and foaming properties of egg white protein. *Food Hydrocoll.*, 124, Part A, 107241. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107241>
- [27] Sukmanov, V., Kovalchuk, O. (2021). [The Influence of the Parameters of the Subcritical Water Extraction Process on the Efficiency of Isoflavones Elicitation from Soy Meal]. *Restaurant and hotel consulting. Innovations*, 4(2), 299–315 (in Ukrainian). <https://doi.org/10.31866/2616-7468.4.2.2021.249092>
- [28] Sukmanov, V., Kovalchuk, O. (2022). [Influence of subcritical water extraction parameters on the efficiency of protein recovery from soybean meal]. *Herald of Khmelnytskyi national university*, 311(4), 256–264 (in Ukrainian). <https://doi.org/10.31891/2307-5732-2022-311-4-256-264>
- [29] (2015). [*State Pharmacopoeia of Ukraine: in 3 vol.*] Kharkiv: SE "Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for the Quality of Medicinal Products" (in Ukrainian).