

СУКМАНОВ В.О.

Полтавський державний аграрний університет

<https://orcid.org/0000-0003-1248-4068>e-mail: sukmanovvaleri@gmail.com

КОВАЛЬЧУК О. В.

Державний біотехнологічний університет

<https://orcid.org/0000-0002-1762-2434>e-mail: olena.vs.kovalchuk@gmail.com

ВПЛИВ ПАРАМЕТРІВ ПРОЦЕСУ СУБКРИТИЧНОЇ ВОДНОЇ ЕКСТРАКЦІЇ НА ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИЛУЧЕННЯ БІЛКУ ІЗ СОЄВОГО ШРОТУ

Робота присвячена дослідженню процесу екстрагування субкритичною водою білку з соєвого шроту. Метою дослідження є встановлення впливу параметрів (температура: 120...160°C, тривалість екстрагування: (5...15 хв), гідромодуль: 1:15...25) процесу екстрагування субкритичною водою на вміст білку у сухій речовині екстракту соєвого шроту та їх раціональні значення.

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

Valeriy SUKMANOV

Poltava State Agrarian University

Olena KOVALCHUK

State Biotechnological University

INFLUENCE OF SUBCRITICAL WATER EXTRACTION PARAMETERS ON THE EFFICIENCY OF PROTEIN RECOVERY FROM SOYBEAN MEAL

This work is devoted to the study of the extraction process of protein from soybean meal with subcritical water. The aim of the study is to determine the influence of parameters (temperature: 120...160°C, extraction duration: (5...15 min), hydromodulus: 1:15...25) of the subcritical water extraction process on the protein content in the dry matter of soybean meal extract and their rational values. To determine the rational parameters of the extraction process, an empirical research method was applied using an orthogonal compositional plan of the 2-nd order for a fractional-factorial experiment 3^{3-1} . Samples of extracts were obtained on a laboratory setup based on a high pressure reactor. In the obtained samples, the total protein content was determined by the method of catalytic oxidation with chemiluminescent detection. On the basis of the obtained results, a quadratic interpolation model was constructed that relates the total protein content in the dry matter of the extract with the extraction parameters. The analysis of the constructed model made it possible to establish the optimal extraction parameters: temperature 141°C, extraction duration 7,5 min. The yield of protein to the dry matter of the extract at optimal values of temperature and duration of the process monotonically increases with an increase in the hydromodulus and reaches a maximum 48,4% at the hydromodulus 1:25. The results obtained can be used to improve the technology for obtaining soy protein concentrate and isolate using the subcritical water extraction method. Due to the environmental friendliness of this extraction technology, the resulting extracts can be directly used to improve the nutritional value of various food products.

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

Постановка проблеми у загальному вигляді

та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями

Важливим побічним продуктом виробництва соєвої олії є соєвий шрот, що являє собою позбавлені оболонки подрібнені та знежирені ядра соєвих бобів. Соєвий шрот містить велику кількість цінного білку, що зумовлює його використання у якості концентрованих кормів та сировини для виробництва соєвих білкових продуктів, таких як концентрат та ізолят соєвого білка.

Соєві білкові продукти мають широке застосування в різних галузях харчової промисловості для підвищення харчової цінності різних продуктів, тому підвищення ефективності процесу вилучення білку з соєвого шроту, а також інших побічних продуктів переробки сої, має важливе прикладне значення для харчової промисловості [1].

Білки сої переважно представлені водорозчинними глобулінами та альбумінами. Це зумовлює широке застосування водної екстракції при виробництві соєвих білкових продуктів.

Перспективним сучасним варіантом водної екстракції є субкритична екстракція, що передбачає проведення екстрагування за підвищеної (100...374°C) температури та надлишкового тиску (до 22,4 МПа). У субкритичному стані знижується в'язкість води та зростає коефіцієнт дифузії, разом зі збереженням її високої розчинюючої здатності [2]. За умови підвищення температури та тиску до субкритичних умов, знижується діелектрична константа води, полярність, в'язкість та збільшується дифузія, що призводить до більшої розчинності неполярних речовин, збільшення масопередачі та посилення властивостей води, як розчинника [3]. Поєднання таких властивостей робить воду в субкритичному стані відмінним екстрагентом, що поєднує у собі екологічність та низьку вартість [4].

Аналіз досліджень та публікацій

Субкритичному водному (СКВ) екстрагуванню біологічно активних речовин з рослинної сировини різного типу присвячено численні наукові праці із узагальненням яких можна ознайомитись в оглядах [3], [4]. У значній кількості робіт показана ефективність СКВ екстрагування поліфенольних сполук з рослинної сировини різного типу: із яблучних вичавок [5], знежирених апельсинових шкірок [2], виноградних вичавок [6], з лушпиння цибулі [7], з соєвої окари [8], [9], [10]. При цьому оптимальна температура екстрагування змінювалась від 100...110°C – для виноградних вичавок, до 220°C – для соєвої окари.

Поліфеноли володіють значною стійкістю при високих температурах [11], однак білки за високих температур можуть деградувати через гідроліз та окислення в присутності вуглеводів. Гідроліз білкових молекул у ході СКВ екстрагування може бути ефективним альтернативним способом отримання цінних амінокислот із відходів аграрного виробництва [12], зокрема з рисових висівок [13], пір'я [14] та панцирів крабів [15]. У [16] встановлено, що СКВ обробка зеїнового білку в діапазоні температур 110...170°C здатна значно підвищити розчинність та здатність до піноутворення. Підвищені температури також сприяють руйнуванню інгібіторів протеїназ, що підвищує біодоступність рослинного білку [17]. Однак окислення білків за високих температур може викликати питання доцільності застосування СКВ екстрагування.

Промислові методи екстрагування та обробки білку не передбачають застосування високих температур процесу, які можуть погіршити розчинність через агрегацію білкових молекул, як це встановлено у [18] для соєвої окари (при 80°C) та у [19] при СКВ обробці яєчних білків (на діапазоні 90...120°C). Незважаючи на це СКВ екстрагуванню білку з рослинної сировини різного виду присвячено велику кількість наукових досліджень, які показують високу ефективність цього методу екстракції при значно вищих температурах. Зокрема роботі [20] при дослідженні СКВ екстрагування знежирених рисових висівок максимальний вихід білку отримано при температурі 200°C та тривалості 30 хв. У дослідженні [21] засвідчено подібні результати для соєвої окари, однак за подальшого підвищення температури тривалість процесу мала зменшуватись. Зокрема при 260°C максимум вмісту білку в екстракті отримано за тривалості ≈ 1 хв і знижувався при > 1 хв.

Дослідженню СКВ екстрагування білку із соєвого шроту присвячено лише декілька робіт. У [22], зокрема, досліджено СКВ екстрагування соєвого шроту на діапазонах зміни параметрів: 100...250°C, 10...30 хв, 1:2,5...5. Максимальний вихід білку отримано за параметрів: 200°C, 30 хв, 1:5. У більш пізній роботі [23] при дослідженні СКВ екстрагування шроту на тому ж діапазоні температур максимальний вихід отримано за температури 225°C, але за тривалості процесу 5 хв. Водночас наведені фото екстрактів у даному дослідженні показують, що за температури $> 175^\circ\text{C}$ починається інтенсивне окислення білків в результаті реакції Майяра та / або карамелізації, що вказує на недоцільність екстрагування білку за вищих температур.

Більш широкий діапазон зміни параметрів СКВ екстрагування соєвого шроту досліджено у [24]. На діапазоні зміни температури – 66...234°C та гідромодуля – 1:3,3...11,7 отримано постійний ріст виходу білка. Однак побудована лінійна модель не дає можливості встановити раціональні параметри процесу екстрагування білка, хоча авторами відмічено як раціональні параметри: $\approx 150^\circ\text{C}$, 1:11,7.

Проведений огляд показує інтенсивну наукову розробку СКВ екстрагування, як перспективного вискоелективного методу вилучення біологічно активних речовин, зокрема білкових, із рослинної сировини різного походження. Однак мало дослідженим залишається питання впливу параметрів процесу СКВ екстрагування на ефективність вилучення БАР з соєвого шроту та їх раціональні значення, що є актуальним і важливим для харчової промисловості.

Формулювання цілей статті

Метою роботи є: встановлення залежності вмісту білку в сухих екстрактах соєвого шроту від параметрів процесу екстрагування субкритичною водою (температура: 120...160°C, тривалість екстрагування: (5...15 хв), гідромодуль: 1:15...25) та їх раціональні значення.

Виклад основного матеріалу

Матеріали та обладнання. У дослідженні використовували соєвий шрот виробництва Глобинського переробного заводу. Екстрагент – дистильована вода. Екстрагування проводили на реакторі високого тиску РВД-2-500 (НПП «УКРОРГСИНТЕЗ», м. Київ, Україна). Фільтрацію здійснювали на пристрої для вакуумного фільтрування (насос Камовського, кобба Бунзена, фільтр-папір марки Ф (чорна стрічка)). Видалення вологи з екстракту виконували із використанням сушильної шафи Memmert UF 30. Вміст білку у екстракті визначали методом каталітичного окиснення з хемілюмінесцентним детектуванням із використанням лабораторного аналізатора TOC-L CSH з приставкою TNM-L для визначення загального органічного вуглецю та азоту.

Вплив параметрів процесу СКВ екстрагування соєвого шроту на вихід білку та їх раціональні значення досліджували на основі даних ряду експериментів за різних комбінацій параметрів та властивостей екстракційної суміші. У якості досліджуваних параметрів (факторів) процесу СКВ екстрагування білку з соєвого шроту були обрані: температура процесу (T), тривалість екстрагування (t) та гідромодуль ($1:C_w$)

екстракційної суміші. Для емпіричної залежності виходу білку до сухого екстракту соєвого шроту від обраних параметрів СКВ екстрагування на прийнятих діапазонах зміни параметрів була прийнята квадратична модель:

$$Y = b_{n_0} + b_{n_1}T + b_{n_2}t + b_{n_3}C_w + b_{n_4}T^2 + b_{n_5}t^2 + b_{n_6}C_w^2 + b_{n_7}Tt, \tag{1}$$

де b_{n_0}, \dots, b_{n_7} – шукані коефіцієнти моделі для натуральних значень факторів.

Прийнята модель залежності містить 8 незалежних коефіцієнтів, що враховують основні лінійні та квадратичні ефекти впливу факторів і один парний ефект взаємодії температури та тривалості процесу СКВ екстрагування. У нормованому та кодованому вигляді рівняння моделі (1) має наступний вигляді

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_1^2 + b_5X_2^2 + b_6X_3^2 + b_7X_1X_2, \tag{2}$$

де b_0, \dots, b_7 – шукані коефіцієнти моделі для нормованих і кодованих значень факторів.

Для визначення коефіцієнтів у рівнянні прийнятої моделі впливу досліджуваних параметрів процесу на вміст білку у сухих екстрактах соєвого шроту було розроблено ортогональний композиційний план 2-го порядку для дробнофакторного експерименту 3^{3-1} (табл. 1).

Таблиця 1

Фактори у нормованому й натуральному вигляді та відповідні результати дослідження

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

* C_w – частка екстрагенту у зразку (15, 20, 25 частин на 1 частину шроту)

Методика проведення експерименту. У ході підготовки дослідних зразків сировину СШ подрібнювали механічним методом і відділяли фракцію 0,5...1мм, що у подальшому використовувалась для отримання екстрактів. Наважки відібраної фракції СШ заливали гарячою дистильованою водою ($\approx 95^\circ C$) у підготовленій лабораторній тарі, перемішували до рівномірного змочування частинок і відразу встановлювали до камери реактору.

У процесі екстрагування у реакторі підтримувався тиск $10 \pm 1 \text{ МПа}$ і здійснювалось постійне перемішування екстракційної суміші магнітною мішалкою (700 хв^{-1}). Температуру екстракційної суміші у реакторі доводили до цільового значення T і витримували, протягом заданого часу t (табл. 1), після чого термоблок вимикався і камера реактора охолоджувалась природнім чином до $\approx 90^\circ C$. З екстракційної суміші, вилученої з реактору, негайно відділяли екстракт на пристрої для вакуумної фільтрації, який природнім чином охолоджувався до кімнатної температури. Фото отриманих зразків рідких екстрактів наведено на рис. 1.



Рис. 1. Рідкі екстракти соєвого шроту

Колір отриманих екстрактів варіювався від кремового, для зразків отриманих за температури $120^\circ C$, до темно-коричневого – за температури $160^\circ C$. Останні, окрім темного кольору, мали відчутний запах горілого, що свідчить про значну інтенсифікацію реакцій Майяра. Інтенсивність зазначених факторів збільшувалась зі збільшенням тривалості процесу. Такі дані свідчать про недоцільність збільшення температури екстрагування понад $140^\circ C$, через значне термічне пошкодження білків та накопичення шкідливих продуктів реакції Майяра.

Необхідно відмітити, що у роботі [23] зазначені значно вищі температури екстрагування (до 250°C), та менш інтенсивний колір екстрактів аж до температури 200°C . Такі результати можуть бути пояснені меншою тривалістю процесу екстрагування та різким охолодженням реактору після витримки екстракційної суміші при заданій температурі екстрагування. Порівняння зазначених якісних факторів вказує значний вплив тривалості процесу, включаючи і тривалість охолодження екстракційної суміші, на інтенсивність окислення білків у процесі СКВ екстрагування. При цьому концентрація проміжних продуктів реакції Майяра у екстракті СШ може бути окремим фактором для оптимізації процесу екстрагування, який суттєво знизить раціональну, з точки зору якості отриманого екстракту, температуру та тривалість СКВ екстрагування.

Отримані рідкі екстракти зберігались у замороженому вигляді до проведення всього обсягу експериментів згідно прийнятого плану. У подальшому з рідких екстрактів видаляли вологу в сушильній шафі Memmert UF 30 за температури 105°C , протягом 36 годин, до отримання сухого залишку постійної маси. Залишковий вміст води у отриманих сухих екстрактах наведено у табл. 2. Отриманий сухий екстракт розмелювали до тонкого порошку (рис. 2) для зберігання та подальшого хімічного аналізу.



Рис. 2. Сухі екстракти соєвого шроту

Методика визначення вмісту білку. Отримані сухі екстракти соєвого шроту аналізували на вміст білку в перерахунку на загальний органічний азот. Вміст загального азоту визначали методом каталітичного окиснення з хемілюмінесцентним детектуванням відповідно до вимог [25].

У ході підготовки до проведення аналізу готували випробуваний розчин досліджуваного сухого екстракту соєвого шроту та 3-и розчини порівняння.

Для приготування випробовуваного розчину, $100,0\text{мг}$ сухого екстракту поміщали у термостійку мірну колбу місткістю 100мл та обережно суспендували у $5,0\text{мл}$ сірчаної кислоти (так, щоб часточки екстракту були покриті сірчаною кислотою та не прилипали до стінок колби вище рівня сірчаної кислоти). Колбу разом з вмістом нагрівали на киплячій водяній бані протягом 15хв , після чого до вмісту колби обережно, по краплям додавали концентрований розчин перексиду водню до розчинення частинок екстракту та знебарвлення одержаного розчину. У подальшому розчин охолоджували і обережно змішували з 60мл 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 – $43,3\text{мг}$, розчин 2 – $86,7\text{мг}$, розчин 3 – $173,3\text{мг}$), висушеного при температурі 105°C протягом 1год , поміщали у мірну колбу місткістю 500мл і розчиняли у 300мл води, доводили до позначки тим самим розчинником і перемішували. Концентрація азоту (C_N) у приготованих розчинах порівняння: $C_N = 26,52\text{мг/л}$; $51,65\text{мг/л}$; $100,1\text{мг/л}$, 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 50мкл інжектуються до вимірювальної комірки однаково кількість разів ($n=8$), де проходить вимірювання електропровідності вихідного розчину (випробовуваного, чи розчину порівняння) та розчину після окиснення під дією жорсткого ультрафіолету. Зміна величини вимірюваного аналізатором сигналу ($y\text{мВ}$) у часі формує графіки у вигляді піків, вигляд яких для розчинів порівняння наведено на рис. 3.

Аналізатор у автоматичному режимі визначає площі піків графіків для кожної інжекції й розраховує їх середнє значення $S_{gr.m}$. При цьому визначається відносне стандартне відхилення (RSD), яке для $n=8$ має бути $RSD \leq 1,69\%$. Для кожного зразка екстракту соєвого шроту аналіз проводили у двох повторах. Середні значення площ $S_{gr.m,i}$ для двох повторів вимірювання випробовуваних розчинів екстракту соєвого шроту наведені у табл. 2.

На основі значень $S_{gr.m}$ та C_N для розчинів порівняння будується стандартна крива, як лінійна регресія їх залежності (рис. 4):

$$C_N = 0,1554352653S_{gr.m} - 2,101182891. \quad (3)$$

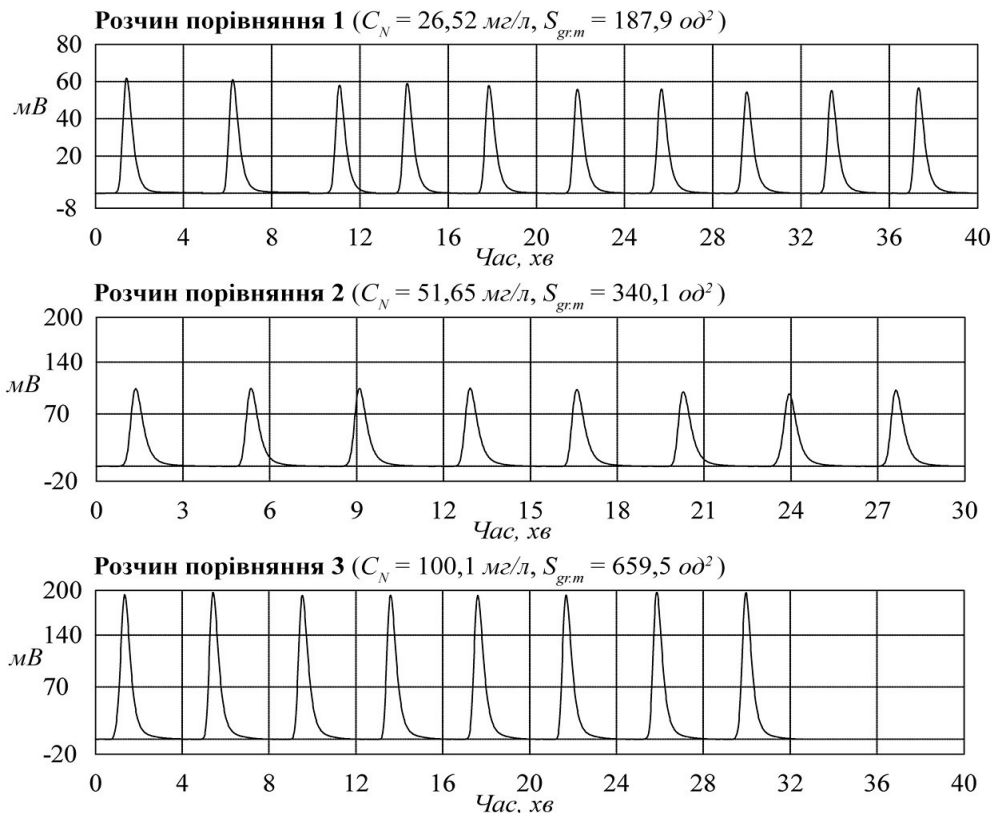


Рис. 3. Результати аналізу розчинів порівняння

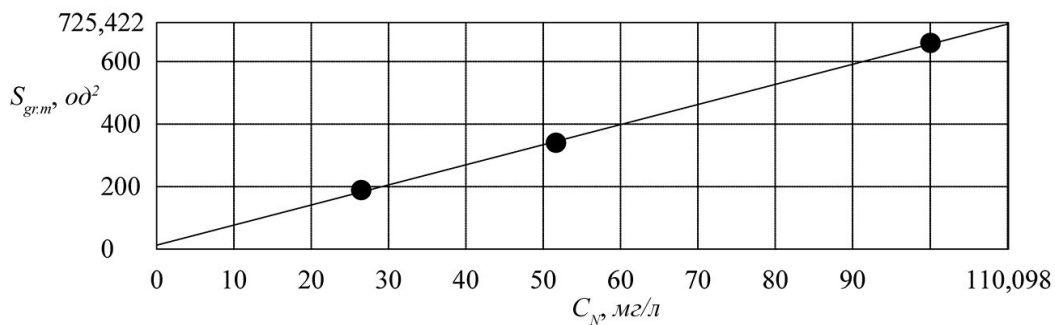


Рис. 4. Стандартна крива залежності площі графіку від концентрації азоту $S_{gr.m}(C_N)$

Із використанням стандартної кривої для одержаних значень $S_{gr.m,i}$ випробуваних розчинів зразків екстракту соєвого шроту, отримані значення концентрації азоту $C_{N,i,j}$ у них (табл. 2).

За середніми, в двох повторах, значеннями концентрації азоту ($C_{N,i}$) визначали концентрацію білку (Y_i) у зразках екстрактів соєвого шроту:

$$Y_i = k_p \frac{1000C_{N,i}}{m_i(100 - W_i)}, \quad \%, \quad (4)$$

де m_i – маса наважки сухого екстракту соєвого шроту, мг; W_i – вміст води у наважці, %; k_p – коефіцієнт перерахунку вмісту азоту на білок (для шротів бобових $k_p = 6,25$ згідно ДСТУ 7169:2010).

Отримані значення концентрації білку в дослідних зразках екстрактів соєвого шроту наведені у табл. 2.

Результати аналізу показують відносно невелику концентрацію білку у отриманих екстрактах соєвого шроту порівняно з ізолятом соєвого білка. Однак необхідно відмітити, що значна частина білку могла бути втрачена на етапі фільтрування екстракту від залишків шроту, оскільки для цієї процедури був застосований фільтр-папір марки Ф (чорна стрічка). Значна частина білку могла не пройти через тонкі пори фільтрувального паперу. Свідченням цьому є випадання білку в отриманих екстрактах у вигляді гелю протягом декількох діб після приготування. Також важливо відмітити на схожі за значенням концентрації білку результати інших авторів [22, 23], отримані за подібних умов фільтрування. Більші значення вмісту білку в

екстракті ($\approx 52\%$) за температури екстрагування 225°C , отримані у [23], можуть бути пов'язані з більшим ступенем гідролізу білків. При цьому за температури 175°C отримано вміст білку $\approx 24\%$, за тривалості екстрагування 5хв при різкому охолодженні реактору.

Таблиця 2

Результати аналізу на загальний органічний азот випробовуваних розчинів соєвого шроту екстракту сухого та концентрація білку у зразках екстрактів

№ зразка	Маса наважки (m_i), мг	Вміст води у наважці (W_i), %	Середня площа піків ($S_{gr.m,i}$), од^2	Концентрація азоту у випробуваному розчині ($C_{N,i,j}$), мг/л	Концентрація білку у зразку екстракту соєвого шроту Y_i , %
1	102,21	0,734	442,2	66,63	40,97
	102,75		442,8	66,73	
2	101,53	0,726	460,6	69,49	43,27
	99,88		456,9	68,92	
3	101,25	0,658	418,8	63,00	38,78
	100,76		409,3	61,52	
4	102,88	0,833	502,1	75,94	47,50
	101,13		513,9	77,78	
5	102,66	1,154	489,7	74,02	46,13
	103,71		506,0	76,55	
6	102,14	1,043	472,4	71,33	39,59
	101,57		376,5	56,42	
7	101,49	1,252	442,7	66,71	41,85
	104,03		458,7	69,20	
8	102,30	1,002	451,2	68,03	41,86
	99,02		434,7	65,47	
9	102,39	1,200	439,5	66,21	40,41
	101,15		424,0	63,80	

Результати та їх обговорення

Коефіцієнти інтерполяційної квадратичної моделі (2) були визначені методом найменших квадратів. Отримані значення коефіцієнтів моделі у нормованому та натуральному вигляді наведені у табл. 3.

За отриманим рівнянням моделі для різних значень гідромодуля були побудовані сімейства поверхонь (рис. 5), що демонструють залежності вмісту білку в сухій речовині екстракту соєвого шроту від тривалості та температури процесу.

Таблиця 3

Коефіцієнти інтерполяційної моделі

Коефіцієнт	Значення	
	для нормованих значень факторів	для натуральних значень факторів
b_0, b_{n0}	46,130	-124,22
b_1, b_{n1}	0,18333	2,2247
b_2, b_{n2}	-1,9233	0,89833
b_3, b_{n3}	1,4600	0,84933
b_4, b_{n4}	-3,2167	-0,0080417
b_5, b_{n5}	-2,2367	-0,089467
b_6, b_{n6}	-0,34833	-0,013933
b_7, b_{n7}	0,36167	0,0036167

Поверхні на рис. 5 показують, значну залежність виходу білку до сухої речовини екстракту соєвого шроту від тривалості та температури процесу СКВ екстрагування. Також можна відмітити поступове підвищення виходу білку зі збільшенням гідромодуля екстракційної суміші.

Наявність точок максимуму на поверхнях, наведених на рис. 5, вказує на існування оптимальних значень температури і тривалості процесу СКВ екстрагування білку з соєвого шроту. Для їх визначення застосуємо відомий алгоритм дослідження функції багатьох змінних на екстремум, згідно якого візьмемо перші похідні за змінними T і t від (1) і прирівняємо до нуля:

$$\frac{dY}{dT} = b_{n1} + 2b_{n4}T + b_{n7}t = 0; \quad \frac{dY}{dt} = b_{n2} + 2b_{n5}t + b_{n7}T = 0. \quad (5)$$

Розв'язання (5) відносно змінних T і t дає значення температури та тривалості за яких, функція Y

(1) має локальний екстремум, що згідно графіків на рис. 5 є максимумом:

$$T = T_{Y_{opt}} = \frac{2b_{n1}b_{n5} - b_{n2}b_{n7}}{b_{n7}^2 - 4b_{n4}b_{n5}}, \quad t = t_{Y_{opt}} = \frac{2b_{n2}b_{n4} - b_{n1}b_{n7}}{b_{n7}^2 - 4b_{n4}b_{n5}}. \quad (6)$$

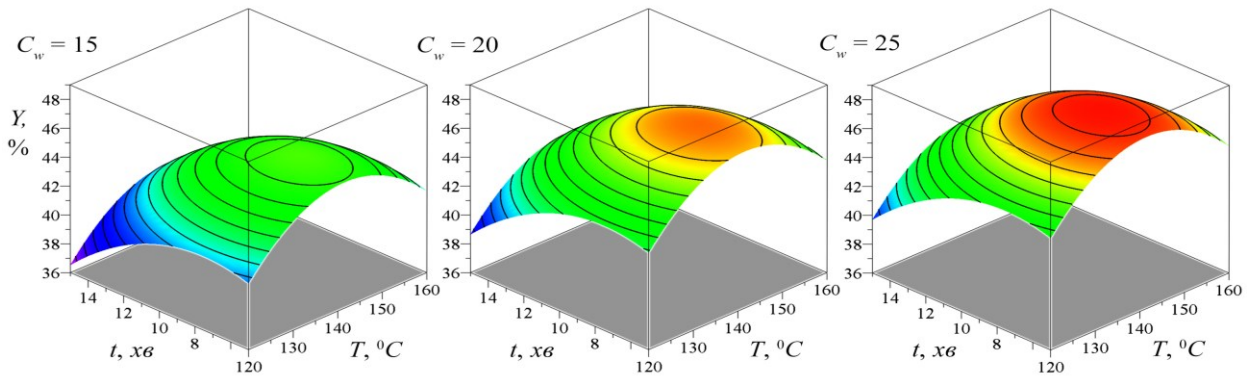


Рис. 5. Поверхні залежностей вмісту білку у сухому екстракті соєвого шроту від тривалості та температури процесу для різних значень гідромодуля

або, з урахуванням даних табл. 3

$$T = T_{Y_{opt}} = 140,10^{\circ}C, \quad t = t_{Y_{opt}} = 7,85xв.$$

Підставивши (6) до залежності (1) отримаємо залежність виходу білку до сухої речовини екстракту від концентрації води у екстракційній суміші за оптимальних значень температури та тривалості процесу:

$$Y = Y_{opt} = b_{n0} - \frac{b_{n1}b_{n2}b_{n7} - b_{n2}^2b_{n4} - b_{n1}^2b_{n5}}{b_{n7}^2 - 4b_{n4}b_{n5}} + b_{n3}C_w + b_{n6}C_w^2, \quad (7)$$

або

$$Y_{opt} = 35,130 + 0,84633C_w - 0,013933C_w^2.$$

Графік залежності (7) наведено на рис. 6, де суцільною лінією показано ділянку кривої у межах досліджуваного діапазону зміни гідромодуля.

Згідно отриманої залежності вихід білка монотонно зростає у діапазоні $C_w = 15...25$ і досягає найбільшого значення $Y_{max} = 47,7\%$ за гідромодуля 1:25.

Екстраполяція залежності (7) за межі досліджуваного діапазону, що наведена штриховою лінією на рис. 6, показує тенденцію зниження виходу білка при $C_w < 15$ та подальшого зростання виходу білка до екстракту при зростанні гідромодуля $C_w > 25$.

Дослідження (7) на екстремум показує, що максимум виходу білка може бути досягнутий за гідромодуля 1:30,5 і складатиме 48,1%. Однак досягнення такого значення виходу білку може бути невиправданим, оскільки зі збільшенням концентрації води у екстракційній суміші від $C_w = 25$ до $C_w = 30,5$, тобто на 22 %, вихід білку зростатиме лише на 0,4 %. Спадання виходу білка $C_w > 30,5$ (рис. 6) є фізично необґрунтованим, однак можна очікувати, що дійсна крива матиме горизонтальну асимптоту поблизу значення 48,1%. Однак такі допущення потребують обов'язкового експериментального підтвердження.

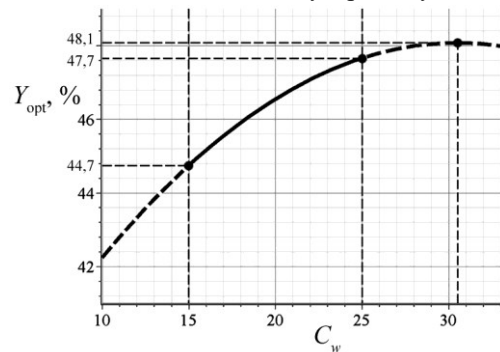


Рис. 1. Залежність максимального виходу білку до сухої речовини екстракту соєвого шроту від гідромодуля

Висновки з даного дослідження і перспективи подальших розвідок у даному напрямі

Таким чином, експериментально досліджено вплив параметрів (температура, тривалість, гідромодуль) процесу субкритичної водної екстракції соєвого шроту на вихід білку до сухої речовини екстракту. На основі отриманих дослідних даних побудовано квадратичну інтерполяційну модель залежності концентрації білку в сухій речовині екстракту від параметрів процесу для діапазону зміни їх значень: температура (120...160°C), тривалість екстрагування (5...15хв), гідромодуль (1:15...25). Встановлено:

- концентрація білка в сухій речовині екстракту соєвого шроту значною мірою залежить від температури, тривалості процесу та величини гідромодуля;
- залежність виходу білка від досліджуваних параметрів процесу має локальний максимум, що досягається при $T_{Y_{opt}} = 140,01^{\circ}C$, $t_{Y_{opt}} = 7,85xв$. Такі значення температури та тривалості процесу забезпечують оптимальний вихід білка для заданого гідромодуля, що визначається залежністю (7).
- за оптимальних значень температури та тривалості процесу вихід білка до сухої речовини екстракту монотонно зростає зі збільшенням гідромодуля і досягає максимуму 47,7% при гідромодулі 1:25;

- екстраполяція моделі на вищі значення гідромодуля показує незначне зростання виходу білка до 48,1% при зростанні гідромодуля на 22 % до 1:30,5.

У роботі вперше досліджено та встановлено оптимальні параметри процесу екстрагування білку субкритичною водою із соєвого шроту. Отримані результати можуть бути використані при удосконаленні технології отримання соєвого білкового концентрату та ізоляту із застосуванням методу СКВ екстрагування.

Література

1. Qin P., Wang T., Luo Y. A review on plant-based proteins from soybean: Health benefits and soy product development. *J. Agric. Food Res.* 2022. Vol. 7. 100265. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100265>.
2. Lachos-Perez D., Baseggio A. M., Mayanga-Torres P. C., Maróstica M. R., Rostagno M. A., Martínez J., Forster-Carneiro T. Subcritical water extraction of flavanones from defatted orange peel. *J. Supercrit. Fluids.* 2018. Vol. 138. P. 7–16. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.03.015>.
3. Zhang J., Wen C., Zhang H., Duan Y., Ma H. Recent advances in the extraction of bioactive compounds with subcritical water: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 2020. Vol. 95. P. 183–195. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.11.018>.
4. Cheng Y., Xue F., Yu S., Du S., Yang Y. Subcritical Water Extraction of Natural Products. *Molecules.* 2021. Vol. 26. 4004. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26134004>.
5. Ibrahim S., Santos R., Bowra S. Optimization of Subcritical Water Mediated Extraction of Apple Pomace Polyphenolics and their Antioxidant Activity. *J. Chromatogr Sep Tech.* 2018. Vol. 9, No. 5. 1000410. DOI: <https://doi.org/10.4172/2157-7064.1000410>.
6. Sukmanov V., Ukrainets A., Zavyalov V., Marynin A. Research of extraction of biologically active substances from grape pomace by subcritical water. *East.-Eur. J. Enterp. Technol.* 2017. Vol. 5, No. 11-89. P. 70–80. DOI: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2017.108992>.
7. Сукманов В. О., Супрун А. В. Екстрагування біологічно активних речовин з лушпиння цибулі субкритичною водою в статичному режимі. *Journal of Chemistry and Technologies.* 2021. Вип. 29, № 2. P. 265–278. DOI: <https://doi.org/10.15421/jchemtech.v29i2.225749>.
8. Sun H., Yuan X., Zhang Z., Su X., Shi M. Thermal Processing Effects on the Chemical Constituent and Antioxidant Activity of Okara Extracts Using Subcritical Water Extraction. *J. Chem.* 2018. Vol. 2018. 6823789. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/6823789>.
9. Nkurunziza D., Pendleton P., Chun B. Optimization and kinetics modeling of okara isoflavones extraction using subcritical water. *Food Chem.* 2019. Vol. 295. P. 613–621. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.129>.
10. Nkurunziza D., Pendleton P., Sivagnanam S., Park J.-S., Chun B. Subcritical water enhances hydrolytic conversions of isoflavones and recovery of phenolic antioxidants from soybean byproducts (okara). *J. Ind. Eng. Chem.* 2019. Vol. 80, No. 25. P. 696–703. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2019.08.044>.
11. Stintzing F. C., Hoffmann M., Carle R. Thermal degradation kinetics of isoflavone aglycones from soy and red clover. *Mol. Nutr. Food Res.* 2006. Vol. 50, No. 4-5. P. 373–380. DOI: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200500187>.
12. Álvarez-Viñas M., Rodríguez-Seoane P., Flórez-Fernández N., Dolores Torres M., Díaz-Reinoso B., Moure A., Domínguez H. 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.* 2021. Vol. 14. P. 373–387. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02536-4>.
13. Sereewatthanawut I., Prapintip S., Watchiraruj K., Goto M., Sasaki M., Shotipruk A. Extraction of protein and amino acids from deoiled rice bran by subcritical water hydrolysis. *Bioresour. Technol.* 2008 Vol. 99, No. 3. P. 555–561. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.030>.
14. Di Domenico Ziero H., Ampese L. C., Sganzerla W. G., Torres-Mayanga P. C., Timko M. T., Mussatto S. I., Forster-Carneiro T. Subcritical water hydrolysis of poultry feathers for amino acids production. *J. Supercrit. Fluids.* 2022. Vol. 181. 105492. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105492>.
15. Rodrigues L. A., Matias A. A., Paiva A. Recovery of antioxidant protein hydrolysates from shellfish waste streams using subcritical water extraction. *Food Bioprod. Process.* 2021. Vol. 130. P. 154–163. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.09.011>.
16. Zhang J., Wen C., Zhang H., Zandile M., Luo X., Duan Y., Ma H. Structure of the zein protein as treated with subcritical water. *Int. J. Food Prop.* 2018. Vol. 21, No. 1. P. 128–138. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1414839>.
17. S'a A., Moreno Y., Carciofi B. Food processing for the improvement of plant proteins digestibility. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2020. Vol. 60, No. 20. P. 3367–3386. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1688249>.
18. Ma C.-Y., Liu W.-S., Kwok K. C., Kwok F. Isolation and characterization of proteins from soymilk residue (okara). *Food Res. Int.* 1996. Vol. 29, No. 8. P. 799–805. DOI: [https://doi.org/10.1016/0963-9969\(95\)00061-5](https://doi.org/10.1016/0963-9969(95)00061-5).
19. Chang K., Jiang W., Liu J. Effect of subcritical water treatment on the structure and foaming properties of egg white protein. *Food Hydrocoll.* 2022. Vol. 124, Part A. 107241. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107241>.

20. Sereewatthanawut I., Prapintip S., Watchiraruj K., Goto M., Sasaki M., Shotipruk A. Extraction of protein and amino acids from deoiled rice bran by subcritical water hydrolysis. *Bioresour. Technol.* 2008. Vol. 99, No. 3. P. 555–561. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.030>.
21. Wiboonsirikul J., Mori M., Khuwijitjaru P., Adachi S. Properties of Extract from Okara by Its Subcritical Water Treatment. *Int. J. Food Prop.* 2013. Vol. 16, No. 5. P. 974–982. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.074>.
22. Watchararuj K., Goto M., Sasaki M., Shotipruk A. Value-added subcritical water hydrolysate from rice bran and soybean meal. *Bioresour. Technol.* 2008. Vol. 99, No. 14. P. 6207–6213. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.021>.
23. Khuwijitjaru P., Anantanasuwong S., Adachi S. Emulsifying and Foaming Properties of Defatted Soy Meal Extracts Obtained by Subcritical Water Treatment. *Int. J. Food Prop.* 2011. Vol. 14, No. 1. P. 9–16. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942910903112118>.
24. Ndlela S. C., de Moura J. M. L. N., Olson N. K., Johnson L. A. Aqueous Extraction of Oil and Protein from Soybeans with Subcritical Water. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2012. Vol. 89, No. 6. P. 1145–1153. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11746-011-1993-7>.

References

1. Qin P., Wang T., Luo Y. A review on plant-based proteins from soybean: Health benefits and soy product development. *J. Agric. Food Res.* 2022. Vol. 7. 100265. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100265>.
2. Lachos-Perez D., Basesgio A. M., Mayanga-Torres P. C., Maróstica M. R., Rostagno M. A., Martínez J., Forster-Carneiro T. Subcritical water extraction of flavanones from defatted orange peel. *J. Supercrit. Fluids.* 2018. Vol. 138. P. 7–16. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.03.015>.
3. Zhang J., Wen C., Zhang H., Duan Y., Ma H. Recent advances in the extraction of bioactive compounds with subcritical water: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 2020. Vol. 95. P. 183–195. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.11.018>.
4. Cheng Y., Xue F., Yu S., Du S., Yang Y. Subcritical Water Extraction of Natural Products. *Molecules.* 2021. Vol. 26. 4004. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26134004>.
5. Ibrahim S., Santos R., Bowra S. Optimization of Subcritical Water Mediated Extraction of Apple Pomace Polyphenolics and their Antioxidant Activity. *J. Chromatogr Sep Tech.* 2018. Vol. 9, No. 5. 1000410. DOI: <https://doi.org/10.4172/2157-7064.1000410>.
6. Sukmanov V., Ukrainets A., Zavyalov V., Marynin A. Research of extraction of biologically active substances from grape pomace by subcritical water. *East-Eur. J. Enterp. Technol.* 2017. Vol. 5, No. 11-89. P. 70–80. DOI: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2017.108992>.
7. Sukmanov V. A., Suprun A. V. [Extraction of biologically active substances from onion peel with the subcritical water in a static mode]. *Journal of Chemistry and Technologies.* 2021. Vol. 29, No. 2. P. 265–278. (in Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.15421/jchemtech.v29i2.225749>.
8. Sun H., Yuan X., Zhang Z., Su X., Shi M. Thermal Processing Effects on the Chemical Constituent and Antioxidant Activity of Okara Extracts Using Subcritical Water Extraction. *J. Chem.* 2018. Vol. 2018. 6823789. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/6823789>.
9. Nkurunziza D., Pendleton P., Chun B. Optimization and kinetics modeling of okara isoflavones extraction using subcritical water. *Food Chem.* 2019. Vol. 295. P. 613–621. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.129>.
10. Nkurunziza D., Pendleton P., Sivagnanam S., Park J.-S., Chun B. Subcritical water enhances hydrolytic conversions of isoflavones and recovery of phenolic antioxidants from soybean byproducts (okara). *J. Ind. Eng. Chem.* 2019. Vol. 80, No. 25. P. 696–703. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2019.08.044>.
11. Stintzing F. C., Hoffmann M., Carle R. Thermal degradation kinetics of isoflavone aglycones from soy and red clover. *Mol. Nutr. Food Res.* 2006. Vol. 50, No. 4-5. P. 373–380. DOI: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200500187>.
12. Álvarez-Viñas M., Rodríguez-Seoane P., Flórez-Fernández N., Dolores Torres M., Díaz-Reinoso B., Moure A., Domínguez H. 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.* 2021. Vol. 14. P. 373–387. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02536-4>.
13. Sereewatthanawut I., Prapintip S., Watchiraruj K., Goto M., Sasaki M., Shotipruk A. Extraction of protein and amino acids from deoiled rice bran by subcritical water hydrolysis. *Bioresour. Technol.* 2008. Vol. 99, No. 3. P. 555–561. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.030>.
14. Di Domenico Ziero H., Ampese L. C., Sganzerla W. G., Torres-Mayanga P. C., Timko M. T., Mussatto S. I., Forster-Carneiro T. Subcritical water hydrolysis of poultry feathers for amino acids production. *J. Supercrit. Fluids.* 2022. Vol. 181. 105492. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105492>.
15. Rodrigues L. A., Matias A. A., Paiva A. Recovery of antioxidant protein hydrolysates from shellfish waste streams using subcritical water extraction. *Food Bioprod. Process.* 2021. Vol. 130. P. 154–163. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.09.011>.
16. Zhang J., Wen C., Zhang H., Zandile M., Luo X., Duan Y., Ma H. Structure of the zein protein as treated with subcritical water. *Int. J. Food Prop.* 2018. Vol. 21, No. 1. P. 128–138. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1414839>.
17. S'a A., Moreno Y., Carciofi B. Food processing for the improvement of plant proteins digestibility. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2020. Vol. 60, No. 20. P. 3367–3386. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1688249>.
18. Ma C.-Y., Liu W.-S., Kwok K. C., Kwok F. Isolation and characterization of proteins from soymilk residue (okara). *Food Res. Int.* 1996. Vol. 29, No. 8. P. 799–805. DOI: [https://doi.org/10.1016/0963-9969\(95\)00061-5](https://doi.org/10.1016/0963-9969(95)00061-5).
19. Chang K., Jiang W., Liu J. Effect of subcritical water treatment on the structure and foaming properties of egg white protein. *Food Hydrocoll.* 2022. Vol. 124, Part A. 107241. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107241>.
20. Sereewatthanawut I., Prapintip S., Watchiraruj K., Goto M., Sasaki M., Shotipruk A. Extraction of protein and amino acids from deoiled rice bran by subcritical water hydrolysis. *Bioresour. Technol.* 2008. Vol. 99, No. 3. P. 555–561. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.030>.
21. Wiboonsirikul J., Mori M., Khuwijitjaru P., Adachi S. Properties of Extract from Okara by Its Subcritical Water Treatment. *Int. J. Food Prop.* 2013. Vol. 16, No. 5. P. 974–982. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.074>.
22. Watchararuj K., Goto M., Sasaki M., Shotipruk A. Value-added subcritical water hydrolysate from rice bran and soybean meal. *Bioresour. Technol.* 2008. Vol. 99, No. 14. P. 6207–6213. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.021>.
23. Khuwijitjaru P., Anantanasuwong S., Adachi S. Emulsifying and Foaming Properties of Defatted Soy Meal Extracts Obtained by Subcritical Water Treatment. *Int. J. Food Prop.* 2011. Vol. 14, No. 1. P. 9–16. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942910903112118>.
24. Ndlela S. C., de Moura J. M. L. N., Olson N. K., Johnson L. A. Aqueous Extraction of Oil and Protein from Soybeans with Subcritical Water. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2012. Vol. 89, No. 6. P. 1145–1153. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11746-011-1993-7>.

Рецензія/Peer review : 25.06.2022 р.

Надрукована/Printed :02.08.2022 р.