

УДК 66.061.3:[635.655:664.696.3  
DOI: 10.31866/2616-7468.4.2.2021.249092

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

*Валерій Сукманов,*  
доктор технічних наук,  
Полтавський державний  
аграрний університет,  
Полтава, Україна,  
sukmanovvaleri@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0003-1248-4068>  
© Сукманов В., 2021

*Олена Ковальчук,*  
аспірантка,  
Державний біотехнологічний  
університет,  
Харків, Україна,  
kolisnyke55@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0002-1762-2434>  
© Ковальчук О., 2021

**Актуальність.** Побічні продукти переробки сої (окара, шрот, макуха), окрім великої кількості протеїну, містять багато цінних біологічно активних речовин, серед яких особливий інтерес дослідників привертають ізофлаволи. Субкритична водна екстракція є перспективним методом вилучення біологічно активних речовин із рослинної сировини, однак такий метод екстрагування ізофлаволи та його раціональні параметри для соєвого шроту залишаються недостатньо дослідженими. **Мета і методи.** Метою роботи є дослідження впливу параметрів (температура: 120...160°C, тривалість екстрагування: 5...15 хв, гідромодуль: 1:15...25) процесу екстрагування субкритичною водою соєвого шроту на вміст ізофлаволи у сухій речовині екстракту. Застосовано емпіричний метод дослідження з використанням ортогонального композиційного плану 2-го порядку для дробового факторного експерименту  $3^{3-1}$ . Зразки екстракту соєвого шроту отримано із використанням експериментальної установки на базі реактора високого тиску «РВД-2-500». Загальний вміст ізофлаволи у сухій речовині екстракту визначався у перерахунку на галуву кислоти методом абсорбційної спектрофотометрії. **Результати.** На основі отриманих результатів побудовано квадратичну інтерполяційну модель, що пов'язує загальний вміст ізофлаволи у сухій речовині екстракту із параметрами екстрагування. Аналіз побудованої моделі дозволив встановити раціональні значення параметрів екстрагування. **Висновки та обговорення.** Встановлено інтенсивний ріст вмісту ізофлаволи у сухому екстракті зі зростанням температури процесу та порівняно невеликий вплив тривалості процесу на цей показник. Вплив гідромодуля неоднозначний – найменший вихід ізофлаволи при гідромодулі  $\approx 1:21,41$ , а його збільшення або зменшення призводить до зростання вмісту ізофлаволи у екстракті. У роботі вперше досліджено та встановлено наявність раціональних значень параметрів процесу екстрагування ізофлаволи субкритичною водою із соєвого шроту. Отримані результати можуть бути використані при розробці технології отримання соєвого білкового концентрату збагаченого ізофлаволами.

**Ключові слова:** екстрагування, субкритична вода, біологічно активні речовини, ізофлаволи, соєвий шрот.

### Актуальність проблеми

*Постановка проблеми.* Соя є однією із найбільш важливих промислових харчових культур. Це бобова культура, зазвичай культивована для виробництва олії і є джерелом білка. Крім того, соя та побічні продукти її переробки (окара, шрот, макуха) традиційно є сировиною для виробництва білкових концентратів, однак, окрім протеїнів, вони містять велику кількість цінних біологічно активних речовин (далі БАР) (вуглеводи, ферменти, інгібітори протеїнази, ізофлавоїни, стерини, сапоніни, харчові волокна), серед яких особливий інтерес дослідників привертають ізофлавоїни (далі ІФ) сої (Tan et al., 2010), які мають сприятливий вплив на організм людини (Duncan et al., 2003; Yu et al., 2016; Zaheer & Humayoun Akhtar, 2017). Найбільш сильними антиоксидантами сої є ізофлавоїни (Науменко та ін., 2013), зокрема даїдзєїн і геністеїн, які мають протипухлинну дію, допомагають боротися із симптомами менопаузи і хворобами серця (Pollard & Suckow, 2006; Sirotkin & Harrath, 2014).

Цінною сировиною для виділення БАР сої є соєвий шрот (далі СШ) – побічний продукт виробництва соєвої олії. В Україні СШ переважно використовується як концентрований корм і лише в окремих випадках для виробництва соєвих напівфабрикатів (соєвий концентрат, ізолят, текстурат тощо).

*Стан вивчення проблеми.* Огляд вітчизняних і закордонних наукових джерел показує, що у переважній більшості відомих наукових робіт (Wiboonsirikul et al., 2013; Ma et al., 1996; Nkurunziza et al., 2019a, 2019b) висвітлені результати дослідження екстрактів та процесу екстрагування соєвої окари, які показують значні перспективи застосування отриманих БАР у харчовій і фармацевтичній промисловості. Суха речовина СШ містить подібний набір БАР, але у вищій концентрації.

Рідинна екстракція дозволяє отримати більшість цінних БАР із СШ, однак традиційні типи екстрагентів (Коничев и др., 2011; Букеєва & Кудайбергенова, 2012; Luthria et al., 2007) мають суттєві недоліки, такі як тривалий час процесу, потреба у значній кількості органічного розчинника, низька селективність екстракції, проблеми розділення екстракту і утворення токсичних органічних відходів, небезпечних для здоров'я людей і навколишнього середовища.

Одним із найбільш перспективних сучасних методів вилучення БАР із рослинної сировини є екстракція субкритичною водою (далі СКВ). СКВ – звичайна вода, але на субкритичному режимі – за температури 100...374°C та тиску 22,4 МПа. За таких умов вода набуває низької в'язкості, малого міжфазного натягу, високого коефіцієнту дифузії і водночас зберігає високу розчинюючу здатність для полярних та неполярних речовин. Поєднання таких властивостей робить СКВ ідеальним екстрагентом. При цьому простота розділення екстрагента і розчинених речовин, технологічна і екологічна безпека та низька собівартість роблять технологію СКВ екстрагування дуже перспективною.

*Невирішені питання.* Останнім часом можна відмітити інтенсивну наукову розробку методу СКВ екстракції рослинної сировини (Sukmanov et al., 2017; Sereewatthanawut et al., 2008; Cheng et al., 2021), зокрема і побічних продуктів переробки сої (Wiboonsirikul et al., 2013; Watchararuji et al., 2008; Khuwijitjaru et al., 2011; Ndlela et al., 2012). Однак екстрагування ізофлавоїнів методом СКВ екстракції та його раціональні параметри для соєвого шроту залишаються недостатньо дослідженими. Таким чином, дослідження, направлені на розвиток і удосконалення

технології екстрагування БАР зі СШ із використанням СКВ, є актуальними і важливими для харчової та фармацевтичної промисловості. Збагачені БАР екстракти СШ можуть знайти застосування при виробництві дієтичних продуктів і страв із підвищеною харчовою цінністю для вегетаріанських меню закладів ресторанного господарства.

### **Мета і методи дослідження**

*Мета статті* – дослідження впливу параметрів (температура: 120...160°C, тривалість екстрагування: (5...15 хв), гідромодуль: 1:15...25) процесу екстрагування субкритичною водою на вміст ізофлавонів у сухій речовині екстракту соєвого шроту.

*Об'єктом дослідження* є процес екстрагування субкритичною водою ізофлавонів із соєвого шроту.

*Предметом дослідження* є зв'язок між технологічними параметрами (температура, тривалість екстрагування, гідромодуль) процесу екстрагування субкритичною водою та вмістом ізофлавонів у сухій речовині екстракту соєвого шроту.

*Методологічною основою дослідження* є підвищення ефективності вилучення біологічно активних речовин із рослинної сировини при застосуванні як екстрагента води із субкритичними параметрами.

*Методи дослідження:* емпіричний, із використанням ортогонального композиційного плану 2-го порядку для дробового факторного експерименту  $3^{5-1}$ ; визначення вмісту ізофлавонів методом абсорбційної спектрофотометрії.

*Інформаційна база дослідження:* наукові статті, нормативно-технічна документація.

*Матеріали та обладнання.* Як зразки для дослідження використовували СШ виробництва Глобинського переробного заводу. Екстрагент – дистильована вода. Екстрагування проводили на реакторі високого тиску РВД-2-500 (НПП «УКРОРГ-СИНТЕЗ», м. Київ, Україна). Фільтрацію здійснювали на пристрої для вакуумного фільтрування (насос Камовського, колба Бунзена, фільтр-папір марки Ф (чорна стрічка)). Видалення вологи з екстракту виконували із використанням сушильної шафи Memmert UF 30. Вміст ІФ у екстракті визначали методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовому та видимому діапазоні із використанням аплікатора ТШХ Nanomat 4 та спектрофотометра UV-1800; ваг електронних XPR6002SDR/A; ваг електронних XPE105.

### **Результати дослідження**

Вихідну сировину СШ подрібнювали та розділяли на фракції за розміром часток із використанням набору лабораторних сит із розмірами комірок 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 мм. Для дослідного екстрагування відбирали фракцію 0,5...1мм. Вибір такої фракції обумовлений необхідністю забезпечення гарного перемішування зразка у невеликій ємності реактора для запобігання налипанню на її стінки й локального перегріву та уникнення проблем із фільтруванням екстракту. Середня товщина пластинок СШ у зразках ( $\approx 0,3$ мм).

Відомо, що найбільшою мірою на ефективність вилучення ІФ органічними розчинниками впливають температура процесу ( $T$ ), тривалість екстрагування ( $t$ )

та гідромодуль ( $1:C_w$ ) (Амельченко и др., 2017), які були обрані як керовані незалежні змінні. Прийняті діапазони варіювання факторів приведені в табл. 1.

Табл. 1. Нульовий рівень та інтервали варіювання факторів

Table 1. Zero level and intervals of factors variations

Рівень фактора	$T, ^\circ C (X_1)$	$t, хв (X_2)$	$1:C_w (1:X_3)$
Нульовий рівень	140	10	1 : 20
Інтервал варіювання	20	5	1 : 5

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

Джерело: власна розробка  
 Source: own elaboration

Вплив прийнятих змінних на ступінь вилучення БАР із сировини досліджували з використанням ортогонального композиційного плану 2-го порядку для дробового факторного експерименту  $3^{3-1}$  (табл. 3).

Підготовлені наважки відібраної фракції СШ заливали гарячим екстрагентом ( $\approx 95^\circ C$ ) у підготовленій лабораторній тарі, перемішували до рівномірного змочування пелюсток і встановлювали до камери реактора.

Екстрагування проводили при постійному перемішуванні із використанням магнітної мішалки ( $700xv^{-1}$ ). У камері реактора підтримувався тиск  $10 \pm 1 MPa$ . Температуру дослідних зразків доводили до прийнятого у плані експерименту значення  $T$  і витримували протягом заданого часу  $t$  (табл. 3). У подальшому термоблок вимикався, і камера реактора зі зразком охолоджувалась природним чином до  $\approx 95^\circ C$  за постійного перемішування та надлишкового тиску у камері, після чого камеру розгерметизовували. Вилучений зразок відразу фільтрували на пристрої для вакуумної фільтрації, і отриманий екстракт охолоджували природним чином до кімнатної температури. Фото отриманих рідких екстрактів наведено на рис. 1.

Зміна кольору екстрактів на рис. 1 зі збільшенням температури та тривалості процесу екстрагування вірогідно відбувається за рахунок утворення бурих полімерів не ензиматичного покоричневіння. Зразки екстрактів за температури  $1060^\circ C$  мали насичений кавовий колір і відчутний запах горілого, що вказує гранично допустиму температуру процесу та недоцільність подальшого її збільшення. Водночас у наукових статтях (Wiboonsirikul et al., 2013), присвячених дослідженню СКВ екстракції соєвої окари, застосовували значно вищі значення температури екстрагування ( $200...220^\circ C$ ).

Така різниця у допустимих температурних режимах екстрагування може бути пояснена різним хімічним складом СШ та окари. Остання вже є побічним продуктом водної екстракції мелених соєвих бобів, відтак містить значно менше білків та малу кількість вуглеводів, що є основними учасниками реакції з утворення бурих полімерів. Натомість СШ є побічним продуктом виробництва соєвої олії і містить білки та вуглеводи у концентрації, навіть більшій, ніж ядро соєвих бобів, що, очевидно, і призводить до значного утворення бурих полімерів при суттєво нижчих температурах.



*Рис. 1.* Рідкі екстракти соєвого шроту  
Джерело: власна розробка

*Fig. 1.* Liquid extracts of soy meal  
Source: own elaboration

Висушуванням у сушильній шафі Memmert UF 30 за температури 105°C протягом 36 годин з одержаних екстрактів видаляли вологу до отримання сухого залишку постійної маси. Здобутий сухий екстракт розмелювали до тонкого порошку (рис. 2) для зберігання та подальшого хімічного аналізу. Остаточний вміст води у отриманих сухих екстрактах наведено у табл. 2.



*Рис. 2.* Сухий екстракт соєвого шроту  
Джерело: власна розробка

*Fig. 2.* Dry soy meal extract  
Source: own elaboration

#### *Методика визначення вмісту ІФ.*

Загальний вміст ІФ у соєвого шроту екстракті сухому (далі СШЕС) визначали у перерахунку на галову кислоту методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовому та видимому діапазоні відповідно до вимог (Council of Europe, 2019).

Для приготування розчину досліджуваного екстракту 80,0мг порошку сухого екстракту, отриманого просіюванням крізь сито номер 180, засипали до круглодонної колби місткістю 100мл, 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 мл. Круглодонну колбу ополіскували водою і промивні води переносили у мірну колбу й доводили об'єм розчину водою до позначки. Розчин у мірній колбі перемішували й фільтрували крізь мембранний PTFE (політетрафторетилен) гідрофільний фільтр діаметром 25 мл із розміром пор 0,45 мкм, відкидаючи перші 5 мл фільтрату.

Одержаний фільтрат обсягом 2,0 мл заливали до мірної колби місткістю 25,0 мл і додавали 1,0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву та 10, 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 (табл. 2) за довжини хвилі світла 762 нм, використовуючи як компенсаційний розчин воду.

Як розчин порівняння використовували розчин галоївої кислоти. Для його приготування 75,0 мл галоївої кислоти поміщали у мірну колбу місткістю 100,0 мл і розчиняли у 70 мл води. Доводили об'єм розчину до позначки, після чого 5,0 мл одержаного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 100 мл. Розчин змішували з 60 мл води і доводили об'єм до позначки та перемішували.

Одержаний розчин обсягом 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 за довжини хвилі світла 762 нм. Для наважки галоївої кислоти масою  $m_0=76.65$  мг при вмісті води  $W_0=9,1\%$  для зразків 1–4 значення оптичної густини розчину порівняння становило  $A_0=0,42670$ , для 55–9  $A_0=42470$ .

Вміст води у наважках СШЕС (табл. 2) визначали напівмікрометодом відповідно до вимог (European Pharmacopoeia, 2019). Визначення проводили з 0,15 г порошку СШЕС, використовуючи суміш розчинників метанол безводний – формамід (50:50, об/об) із температурою  $45\pm 5^\circ\text{C}$ . Після додавання наважки сухого екстракту перед титруванням суміш суспендували протягом 5 хв.

Згідно із законом Бугера-Ламберта-Бера:

$$A_{ji}/C_{ji} = A_0/C_0, \quad (1)$$

де  $A_{ji}$  – оптична густина випробовуваного розчину;  $A_0$  – оптична густина розчину порівняння;  $C_{ji}$  – концентрація ІФ у розчині зразка;  $C_0$  – концентрація галоївої кислоти у розчині порівняння;  $j=1,2$  – номер повтору вимірювання;  $i=1,\dots,n$  – номер зразка СШЕС.

Концентрація ІФ у розчині зразка та концентрація галоївої кислоти у розчині порівняння згідно з описаним методом дослідження:

$$C_{ji} = \frac{8}{100^3} m(100 - W)Y_{ji}, \quad C_0 = \frac{40}{100^4} m_0(100 - W_0)P, \quad (2)$$

де  $m$  – маса наважки випробовуваного зразка, мг;  $Y_{ji}$  – загальний вміст ІФ у зразку СШЕС, %;  $W$  – вміст води у наважці випробовуваного зразка, %;  $P$  – вміст основної речовини у галоївій кислоті (99,71 %).

Підставивши (2) до (1) і виразивши  $Y_{ji}$ , отримаємо формулу для визначення загальної суми ізофлавонів у досліджуваному СШЕС у перерахунку на безводну галоїву кислоту

$$Y_{ji} = \frac{A_{ji}m_0P(100 - W_0)}{20A_0m(100 - W)} \quad (3)$$

Для кожного досліджуваного визначення загального вмісту ІФ у сухому екстракті проводили у двох повторах. Розраховані значення  $Y_{ji}$  загального вмісту ІФ та середні значення по двох замірах  $Y_i$  наведені у табл. 2.

Табл. 2. Результати визначення оптичної густини досліджуваного розчину СШЕС та розчину порівняння

Fig. 2. The results of determining the optical density of the examined dip DESM and comparison dip

№ зразка	Маса наважки (m), мг	Вміст води у наважці (W), %	Оптична густина розчину ( $A_{ji}$ )	$Y_{ji}$ %	Середнє $Y_i$ %
1	2	3	4	5	6
1	82,12	0,734	0,1584	1,58186	1,60078
	82,48		0,1629	1,61970	
2	81,83	0,726	0,13300	1,33280	1,33513
	81,30		0,13260	1,33746	
3	80,62	0,658	0,12020	1,22177	1,22768
	82,04		0,12350	1,23359	
4	84,30	0,833	0,16990	1,65448	1,65151
	83,01		0,16670	1,64854	
5	82,65	1,154	0,16000	1,60185	1,611855
	82,14		0,16100	1,62186	
6	81,47	1,043	0,20930	2,12338	2,127105
	81,03		0,20890	2,13083	
7	80,32	1,252	0,27510	2,83688	2,83377
	80,76		0,27600	2,83066	
8	83,48	1,002	0,33300	3,29563	3,49843
	82,68		0,37040	3,70123	
9	83,28	1,200	0,31330	3,11433	3,10991
	84,69		0,31770	3,10549	

Джерело: власна розробка  
 Source: own elaboration

На основі даних табл. 2 та матриці планування експерименту сформовано дані для аналізу впливу обраних факторів процесу екстрагування СКВ соєвого шроту на вихід ІФ до сухої речовини екстракту (табл. 3).

*Аналіз дослідних даних.* Безпосередній аналіз даних у табл. 3 ускладнений рандомізацією значень факторів  $X_i$ . Для спрощення аналізу дослідних даних, отриманих у ході реалізації дробового факторного експерименту, методом найменших квадратів була побудована інтерполяційна квадратична модель. За прийнятого плану експерименту, рівняння моделі може містити 8 незалежних коефіцієнтів,

що враховують основні лінійні та квадратичні ефекти впливу факторів та один парний ефект взаємодії:

$$\tilde{Y} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_1^2 + b_5X_2^2 + b_6X_3^2 + b_7X_1X_2, \quad (4)$$

де  $b_0, \dots, b_7$  – шукані сталі коефіцієнти моделі.

Табл. 3. Фактори процесу у нормованому й натуральному вигляді та відповідні результати дослідження

Table 3. Factors process in rationed and natural forms, and relevant research results

№ досл.	Фактори процесу						Результати дослідження
	у кодованому та нормованому вигляді			в натуральному вигляді			
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$T, ^\circ C$	$t, x\text{г}$	$C_w$	
1	-1	-1	-1	120	5	15	1,6008
2	-1	0	+1	120	10	25	1,3351
3	-1	+1	0	120	15	20	1,2277
4	0	-1	+1	140	5	25	1,6515
5	0	0	0	140	10	20	1,6119
6	0	+1	-1	140	15	15	2,1271
7	+1	-1	0	160	5	20	2,8338
8	+1	0	-1	160	10	15	3,4984
9	+1	+1	+1	160	15	25	3,1099

Джерело: власна розробка  
 Source: own elaboration

Для факторів у натуральному вигляді рівняння (4) переписеться так

$$\tilde{Y} = b_{n0} + b_{n1}T + b_{n2}t + b_{n3}C_w + b_{n4}T^2 + b_{n5}t^2 + b_{n6}C_w^2 + b_{n7}Tt, \quad (5)$$

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

Отримані значення коефіцієнтів моделі у нормованому та натуральному вигляді наведені у табл. 4.

Значення коефіцієнтів для нормованих значень факторів безпосередньо показують міру впливу відповідної складової рівняння (4), (5). Відмітимо, що найменший вплив на вихід ІФ до екстракту у проведеному дослідженні мають змішаний ефект температури і тривалості процесу ( $b_7$ ), квадратична ( $b_5$ ) та лінійна ( $b_2$ ) складові від тривалості. Якщо з малим впливом змішаного ефекту та квадрату тривалості можна погодитись, то тривалість процесу ( $b_2$ ) згідно з елементарними уявленнями про процес екстрагування повинна мати більший вплив.

Пояснити малий вплив тривалості процесу екстрагування на вихід ІФ можна значною інерційністю системи нагріву сировини у реакторі. Під час тривалого процесу нагріву та охолодження також відбувається екстрагування, що розмиває



вплив тривалості процесу із цільовим значенням температури. Тому це питання у подальшому має бути додатково досліджено для коректного врахування фактора тривалості при визначенні раціональних технологічних параметрів процесу екстрагування СКВ БАР соєвого шроту.

Табл. 4. Коефіцієнти інтерполяційної моделі  
 Table 4. Coefficients of the interpolation model

Коефіцієнт	Значення	
	для нормованих значень факторів	для натуральних значень факторів
$b_0, b_{n_0}$	1,6118548	24,2022581
$b_1, b_{n_1}$	0,8797538	-0,2850927
$b_2, b_{n_2}$	0,0631072	0,0646209
$b_3, b_{n_3}$	-0,1882933	-0,5722678
$b_4, b_{n_4}$	0,4707941	0,0011770
$b_5, b_{n_5}$	-0,0566787	-0,0022671
$b_6, b_{n_6}$	0,3341307	0,0133652
$b_7, b_{n_7}$	-0,0047546	-0,0000475

Джерело: власна розробка  
 Source: own elaboration

На рис. 3 наведено поверхні залежностей вмісту ІФ у отриманих СШЕС від тривалості та температури процесу для різних значень гідромодуля.

На рис. 4 наведені сімейства кривих залежностей виходу ІФ у СШЕС від температури процесу у межах розглядуваного діапазону значень (120...160°C, ), для різних значень тривалості процесу та гідромодулів і точки дослідних даних (табл. 3).

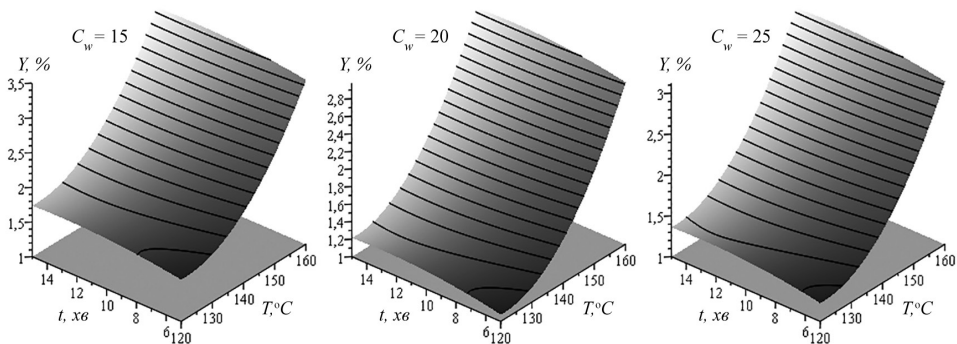


Рис. 3. Поверхні залежностей вмісту ізофлавонів у СШЕС від тривалості та температури процесу для різних значень гідромодуля

Джерело: власна розробка

Fig. 3. Surfaces of dependences of the isoflavones content in DESM on the process duration and temperature for different measures of hydromodule  
 Source: own elaboration

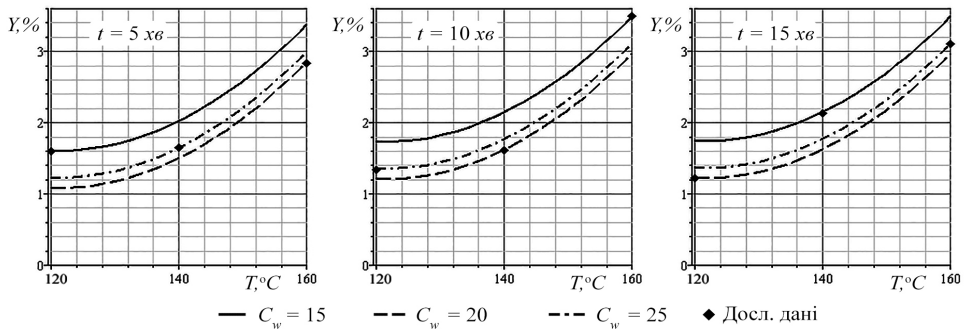


Рис. 4. Криві залежностей вмісту ізофлавонів у СШЕС від температури процесу для різних значень тривалості та гідромодуля  
 Джерело: власна розробка

Fig. 4. Curves of dependences of isoflavones content in DESM on process temperature for different measures of duration and hydromodule  
 Source: own elaboration

Поверхні на рис. 3 та графіки на рис. 4 показують інтенсивний ріст виходу ІФ у суху речовину екстракту із ростом температури процесу, при цьому максимальний вихід ІФ спостерігається при гідромодулі 1 : 15.

З ростом тривалості екстрагування також можна відмітити ріст виходу ІФ, однак, згідно з отриманими даними, спостерігається певна стабілізація концентрації ІФ у діапазоні  $t=10...15$  хв. При детальнішому розгляді поверхонь на рис. 3 за їх нижніми межами (криві при  $T=120^{\circ}\text{C}$ ) можна відмітити наявність невеликого максимуму в межах розглядуваного діапазону тривалості процесу. Це, зі свого боку, вказує на наявність певного раціонального значення тривалості процесу екстрагування, що забезпечує максимальний вихід ІФ у СШЕС при заданих температурі та гідромодулі. Для визначення такого значення застосуємо відомий алгоритм дослідження функції на екстремум, згідно з яким візьмемо першу похідну за змінною  $t$  від (5) і прирівняємо до нуля:

$$\frac{d}{dt} \tilde{Y} = b_{n2} + 2b_{n5}t + b_{n7}T = 0 \quad (6)$$

Розв'язання (6) відносно  $t$  дає значення тривалості, за якого функція  $\tilde{Y}$ , при заданих значеннях інших змінних, матиме локальний екстремум, який згідно з графіками рис. 3 є максимумом:

$$t = t_{Y_{\max}} = -\frac{1}{2b_{n5}}(b_{n2} + b_{n7}T) = 14,25157 - 0,01049T \quad (7)$$

Згідно із (7) зі збільшенням температури  $T$  екстрагування для забезпечення максимального виходу ІФ у суху речовину екстракту тривалість процесу має зменшуватись.

Підставивши (7) до залежності (5), отримаємо наступну залежність для максимального виходу ІФ у суху речовину екстракту:

$$\tilde{Y}_{\max} = \left( b_{n0} - \frac{b_{n2}^2}{4b_{n5}} \right) + \left( b_{n1} - \frac{b_{n2}b_{n7}}{2b_{n5}} \right) T + \left( b_{n4} - \frac{b_{n7}^2}{4b_{n5}} \right) T^2 + b_{n3}C_w + b_{n6}C_w^2 \quad (8)$$

Побудовані згідно із (8) поверхня та крива залежності максимального загального вмісту ІФ у сухій речовині екстракту наведені на рис. 5, а та б відповідно.

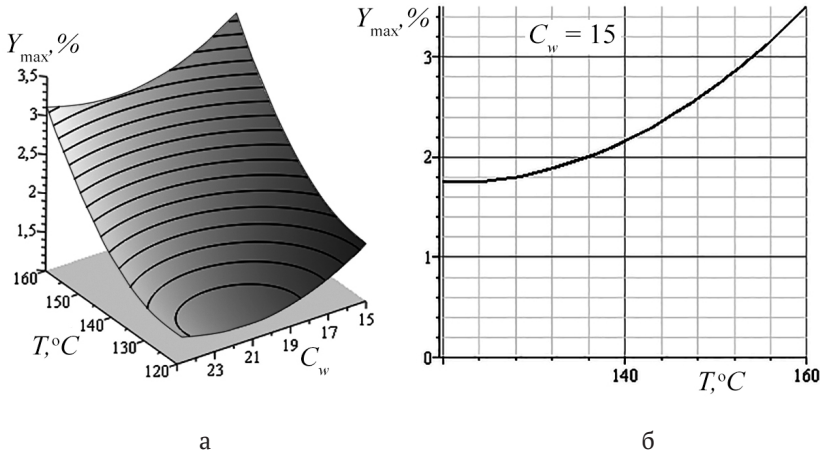


Рис. 5. Поверхня (а) та крива (б) залежності максимального вмісту ізофлавонів у СШЕС для заданих значень температури процесу та гідромодуля  
 Джерело: власна розробка

Fig. 5. Surface (a) and curve (b) dependences of the maximum isoflavones content in DESM for the specified measures of the process temperature and hydromodule  
 Source: own elaboration

Поверхня на рис. 5, а демонструє залежність виходу ІФ від гідромодуля та температури екстрагування. Спостерігається чіткий мінімум при  $C_w = 21,41$  та зростання виходу при відхиленні від відповідного значення гідромодуля, причому більш ефективним у розглядуваному діапазоні зміни гідромодуля виявляється його зниження до  $C_w = 15$ , що більш доцільно і з економічної точки зору. На рис. 5, б для такого значення гідромодуля показано графік залежності максимального виходу ІФ у екстракт від температури екстрагування.

### Висновки та обговорення результатів

Таким чином, експериментально досліджено вплив параметрів (температура, тривалість, гідромодуль) процесу екстрагування соєвого шроту субкритичною водою на вихід ІФ до сухого екстракту. Для діапазону зміни факторів: температура (120...160°C), тривалість екстрагування (5...15 хв), гідромодуль (1:15...25) побудовано квадратичну інтерполяційну залежність концентрації ІФ у екстракті від параметрів процесу. Встановлено, що:

1. концентрація ІФ у екстракті соєвого шроту зростає зі збільшенням температури та тривалості процесу у межах діапазонів значень, що розглядалися;

2. величина гідромодуля неоднозначно впливає на концентрацію ІФ у екстракті соєового шроту: мінімальна з отриманих концентрацій спостерігається при середньому значенні гідромодуля  $\approx 1:21,41$ , а зменшення або збільшення гідромодуля відносно цього значення призводить до зростання концентрації ІФ;

3. максимальний вихід ІФ до екстракту забезпечується при значенні тривалості процесу згідно із (7) та гідромодулі 1:15: 1,74 % – при  $t = 12,99$  хв;  $T = 120^\circ\text{C}$ ; 2,15 % – при  $t = 12,99$  хв;  $T = 140^\circ\text{C}$ ; 3,50 % – при  $t = 12,57$  хв;  $T = 160^\circ\text{C}$ .

Важливо відмітити, що серед параметрів процесу екстрагування, що розглядаються, найбільш вагомим за впливом на концентрацію ІФ у екстракті соєового шроту виявилась температура. Значення концентрації ІФ за мінімальної та максимальної з досліджуваних значень температури відрізняються вдвічі. Водночас за температури екстрагування  $>140^\circ\text{C}$  значно посилюються реакції з утворення бурих полімерів, що обмежує можливість застосування високих температур при екстрагуванні соєового шроту.

Зростання тривалості процесу дозволяє збільшити вміст ІФ у екстракті, однак лише до деякого значення, величина якого визначається співвідношенням (7). Це вказує на існування раціональних параметрів процесу екстрагування СКВ із соєового шроту, які забезпечують максимальний вихід ІФ у екстракт, що показано і досліджено вперше.

Отримані результати можуть бути використані при розробці технології отримання соєового білкового концентрату, збагаченого ізофлавонами, методом СКВ екстрагування. Такий продукт може отримати широке застосування для підвищення харчової цінності та збалансування за вмістом білка напівфабрикатів та страв вегетаріанського меню.

## СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ

---

- Амельченко, В. Е., Болтовский, В. С., & Флейшер В. Л. (2017). Влияние условий экстракции на эффективность извлечения экстрактивных веществ из ромашки аптечной и мяты перечной. *Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя хімічных навук*, 2, 88–92.
- Букеева, А. В., & Кудайбергенова, С. Ж. (2012). Обзор современных методов выделения биологически активных веществ из растений. *Вестник Евразийского национального университета имени Л. Н. Гумилева*, 2, 192–197.
- Коничев, А. С., Баурин, В. П., Федоровский, Н. Н., Марахова, А. И., Якубович, Л. М., & Черникова, М. А. (2011). Традиционные и современные способы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья: перспективы, достоинства, недостатки. *Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки*, 3, 49–54.
- Науменко, В. Д., Сорочинський, Б. В., & Количев, В. І. (2013). Рослинні ізофлавоїни біосинтезу, детектування та біологічні властивості. *Biotechnologia Acta*, 6(5), 62–78. <https://doi.org/10.15407/biotech6.05.062>
- Cheng, Y., Xue, F., Yu, S., Du, S., & Yang, Y. (2021). Subcritical Water Extraction of Natural Products. *Molecules*, 26(13), 4004. <https://doi.org/10.3390/molecules26134004>
- Council of Europe. (2019). *European Pharmacopoeia* (Vol. 1;10th ed.). Strasbourg.
- Duncan, A. M., Phipps, W. R., & Kurzer, M. S. (2003). Phyto-oestrogens. *Best Practice & Research: Clinical Endocrinology & Metabolism*, 17(2), 253–271. [https://doi.org/10.1016/s1521-690x\(02\)00103-3](https://doi.org/10.1016/s1521-690x(02)00103-3)

- Khuwijitjaru, P., Anantanasuwong, S., & Adachi, S. (2011). Emulsifying and Foaming Properties of Defatted Soy Meal Extracts Obtained by Subcritical Water Treatment. *International Journal of Food Properties*, 14(1), 9–16. <https://doi.org/10.1080/10942910903112118>
- Luthria, D., Biswas R., & Natarajan, S. (2007). Comparison of extraction solvents and techniques used for the assay of isoflavones from soybean. *Food Chemistry*, 105, 325–333. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.047>
- 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)
- 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. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(6), 1145–1153. <https://doi.org/10.1007/s11746-011-1993-7>
- Nkurunziza, D., Pendleton, P., & Chun, B. (2019a). Optimization and kinetics modeling of okara isoflavones extraction using subcritical water. *Food Chemistry*, 295, 613–621. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.129>
- Nkurunziza, D., Pendleton, P., Sivagnanam, S., Park, J.-S., & Chun, B. (2019b). Subcritical water enhances hydrolytic conversions of isoflavones and recovery of phenolic antioxidants from soybean byproducts (okara). *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 80(25), 696–703. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2019.08.044>
- Pollard, M., & Suckow, M. A. (2006). Dietary prevention of hormone refractory prostate cancer in Lobund-Wistar rats: A review of studies in a relevant animal model. *Comparative Medicine*, 56(6), 461–467.
- Sereewatthanawut, I., Prapintip, S., Watchirarujj, K., Goto, M., Sasaki, M., & Shotipruk, A. (2008). Extraction of protein and amino acids from deoiled rice bran by subcritical water hydrolysis. *Bioresource Technology*, 99(3), 555–561. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.030>
- Sirotkin, A. V., & Harrath, A. H. (2014). Phytoestrogens and their effects. *European Journal of Pharmacology*, 741, 230–236. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.057>
- Sukmanov, V., Ukrainets, A., Zavialov, V., & Marynin, A. (2017). Research of extraction of biologically active substances from grape pomace by subcritical water. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 5, 11(89), 70–80. <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2017.108992>
- Tan, T. S., Prasad, K. N., & Ismail, A. (2010). Antioxidant capacity, phenolics and isoflavones in soybean by-products. *Food Chemistry*, 123(3), 583–589. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.074>
- Watchararujj, K., Goto, M., Sasaki, M., & Shotipruk, A. (2008). Value-added subcritical water hydrolysate from rice bran and soybean meal. *Bioresource Technology*, 99, 6207–6213.
- Wiboonsirikul, J., Mori, M., Khuwijitjaru, P., & Adachi, S. (2013). Properties of Extract from Okara by Its Subcritical Water Treatment. *International Journal of Food Properties*, 16(5), 974–982. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.573119>
- Yu, J., Bi, X., Yu, B., & Chen, D. (2016). Isoflavones: Anti-inflammatory benefit and possible caveats. *Nutrients*, 8(6), 361. <https://doi.org/10.3390/nu8060361>
- Zaheer, K., & Humayoun Akhtar, M. (2017). An updated review of dietary isoflavones: Nutrition, processing, bioavailability and impacts on human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(6), 1280–1293. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.989958>

## REFERENCES

- Amelchenko, V. E., Boltovski, V. S., & Fleisher V. L. (2017). Vliianie uslovii ekstraktsii na effektivnost izvlecheniia ekstraktivnykh veshchestv iz romashki aptechnoi i miati perechnoi [The effect of extraction conditions on the efficiency of extractives' recovery

- from matricaria chamomilla and mentha piperita]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Chemical Series*, 2, 88–92 [in Russian].
- Bukeeva, A. V., & Kudaibergenova, S. Zh. (2012). Obzor sovremennykh metodov vydeleniya biologicheskii aktivnykh veshchestv iz rastenii [Review of modern methods for the isolation of biologically active substances from plants]. *Vestnik Evraziiskogo natsional'nogo universiteta imeni L. N. Gumileva*, 2, 192–197 [in Russian].
- Cheng, Y., Xue, F., Yu, S., Du, S., & Yang, Y. (2021). Subcritical Water Extraction of Natural Products. *Molecules*, 26(13), 4004. <https://doi.org/10.3390/molecules26134004> [in English].
- Council of Europe. (2019). *European Pharmacopoeia* (Vol. 1; 10th ed.). Strasbourg [in English].
- Duncan, A. M., Phipps, W. R., & Kurzer, M. S. (2003). Phyto-oestrogens. *Best Practice & Research: Clinical Endocrinology & Metabolism*, 17(2), 253–271. [https://doi.org/10.1016/s1521-690x\(02\)00103-3](https://doi.org/10.1016/s1521-690x(02)00103-3) [in English].
- Khuwijitjaru, P., Anantanasuwong, S., & Adachi, S. (2011). Emulsifying and Foaming Properties of Defatted Soy Meal Extracts Obtained by Subcritical Water Treatment. *International Journal of Food Properties*, 14(1), 9–16. <https://doi.org/10.1080/10942910903112118> [in English].
- Konichev, A. S., Baurin, V. P., Fedorovskii, N. N., Marakhova, A. I., Iakubovich, L. M., & Chernikova, M. A. (2011). Traditsionnye i sovremennye sposoby ekstraksii biologicheskii aktivnykh veshchestv iz rastitel'nogo syr'ya: perspektivy, dostoinstva, nedostatki [Traditional and modern methods of extraction of biologically active substances from plant materials: prospects, advantages, disadvantages]. *Vestnik Moskovskogo gosudarstvennogo oblastnogo universiteta. Seriya: Estestvennye nauki*, 3, 49–54 [in Russian].
- Luthria, D., Biswas R., & Natarajan, S. (2007). Comparison of extraction solvents and techniques used for the assay of isoflavones from soybean. *Food Chemistry*, 105, 325–333. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.047> [in English].
- 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) [in English].
- Naumenko, V. D., Sorochynskiy, B. V., & Kolychev, V. I. (2013). Roslynni izoflavony biosyntezy, detektuvannya ta biolohichni vlastyvoli [Plant isoflavones biosynthesis, detection and biological properties]. *Biotechnologia Acta*, 6(5), 62–78. <https://doi.org/10.15407/biotech6.05.062> [in Ukrainian].
- 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. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(6), 1145–1153. <https://doi.org/10.1007/s11746-011-1993-7> [in English].
- Nkurunziza, D., Pendleton, P., & Chun, B. (2019a). Optimization and kinetics modeling of okara isoflavones extraction using subcritical water. *Food Chemistry*, 295, 613–621. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.129> [in English].
- Nkurunziza, D., Pendleton, P., Sivagnanam, S., Park, J.-S., & Chun, B. (2019b). Subcritical water enhances hydrolytic conversions of isoflavones and recovery of phenolic antioxidants from soybean byproducts (okara). *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 80(25), 696–703. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2019.08.044> [in English].
- Pollard, M., & Suckow, M. A. (2006). Dietary prevention of hormone refractory prostate cancer in Lobund-Wistar rats: A review of studies in a relevant animal model. *Comparative Medicine*, 56(6), 461–467 [in English].
- 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. *Bioresource Technology*, 99(3), 555–561. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.030> [in English].
- Sirotkin, A. V., & Harrath, A. H. (2014). Phytoestrogens and their effects. *European Journal of Pharmacology*, 741, 230–236. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.057> [in English].

- Sukmanov, V., Ukrainets, A., Zavalov, V., & Marynin, A. (2017). Research of extraction of biologically active substances from grape pomace by subcritical water. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 5, 11(89), 70–80. <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2017.108992> [in English].
- Tan, T. S., Prasad, K. N., & Ismail, A. (2010). Antioxidant capacity, phenolics and isoflavones in soybean by-products. *Food Chemistry*, 123(3), 583–589. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.074> [in English].
- Watchararujji, K., Goto, M., Sasaki, M., & Shotipruk, A. (2008). Value-added subcritical water hydrolysate from rice bran and soybean meal. *Bioresource Technology*, 99, 6207–6213 [in English].
- Wiboonsirikul, J., Mori, M., Khuwijitjaru, P., & Adachi, S. (2013). Properties of Extract from Okara by Its Subcritical Water Treatment. *International Journal of Food Properties*, 16(5), 974–982. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.573119> [in English].
- Yu, J., Bi, X., Yu, B., & Chen, D. (2016). Isoflavones: Anti-inflammatory benefit and possible caveats. *Nutrients*, 8(6), 361. <https://doi.org/10.3390/nu8060361> [in English].
- Zaheer, K., & Humayoun Akhtar, M. (2017). An updated review of dietary isoflavones: Nutrition, processing, bioavailability and impacts on human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(6), 1280–1293. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.989958> [in English].

Стаття надійшла до редакції 26.10.21 р.

УДК 66.061.3:[635.655:664.696.3

**Валерій Сукманов,**  
доктор технічних наук,  
Полтавський державний  
аграрний університет,  
Полтава, Україна,  
sukmanovvaleri@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0003-1248-4068>

**Елена Ковальчук,**  
аспірантка,  
Державний біотехнологічний  
університет,  
Харьков, Україна,  
kolisnyke55@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0002-1762-2434>

## ВЛИЯНИЕ ПАРАМЕТРОВ ПРОЦЕССА СУБКРИТИЧЕСКОЙ ВОДНОЙ ЭКСТРАКЦИИ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ИЗОФЛАВОНОВ ИЗ СОЕВОГО ШРОТА

**Актуальность.** Побочные продукты переработки сои (окара, шрот, жмых), кроме большого количества протеина, содержат много ценных биологически активных веществ, среди которых особый интерес исследователей привлекают изофлавоны. Субкритическая водная экстракция является перспективным методом извлечения биологически активных веществ из растительного сырья, однако такой метод экстрагирования изофлавонов и его рациональные параметры для соевого шрота остаются недостаточно исследованными. **Цель и методы.** Целью работы является исследование влияния параметров (температура: 120...160°C, продолжительность экстрагирования: 5...15 хв, гидромодуль: 1:15...25) процесса экстрагирования субкритической водой соевого шрота на содержание изофлавонов в сухом веществе экстракта. Применен эмпирический метод исследования с использованием ортогонального композиционного плана 2-го порядка для дробного факторного эксперимента. Образцы экстракта соевого шрота получены с использованием экспериментальной установки на базе реактора высокого давления «РВД-2-500». Общее содержание изофлавонов в сухом веществе экстракта определяли в пересчете на галловую кислоту методом абсорбционной спектрофотометрии. **Результаты.** На основе полученных результатов построена квадратическая интерполяционная модель, которая связывает общее содержание изофлавонов в сухом веществе экстракта с параметрами экстрагирования. Анализ построенной модели позволил установить рациональные значения параметров экстрагирования. **Выводы и обоснование.** Установлен интенсивный рост содержания изофлавонов в сухом экстракте с ростом температуры процесса и сравнительно небольшое влияние продолжительности процесса на этот показатель. Влияние гидромодуля неоднозначно – наименьший выход изофлавонов при гидромодуле  $\approx 1:21,41$ , а его увеличение или уменьшение приводит к росту содержания изофлавонов в экстракте. В работе впервые исследовано и установлено наличие рациональных значений параметров процесса извлечения изофлавонов субкритической водой из соевого шрота. Полученные результаты могут быть использованы при разработке технологии получения соевого белкового концентрата, обогащенного изофлавонами.

**Ключевые слова:** экстрагирование, субкритическая вода, биологически активные вещества, изофлавоны, соевый шрот.



UDC 66.061.3:[635.655:664.696.3

**Valeriy Sukmanov,**  
*Doctor of Technical Sciences,  
Poltava State agricultural university,  
Poltava, Ukraine,  
sukmanovvaleri@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0003-1248-4068>*

**Elena Kovalchuk,**  
*graduate student,  
State biotechnological university,  
Kharkov, Ukraine,  
kolisnyke55@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0002-1762-2434>*

### THE INFLUENCE OF THE PARAMETERS OF THE SUBCRITICAL WATER EXTRACTION PROCESS ON THE EFFICIENCY OF ISOFLAVONES ELICITATION FROM SOY MEAL

**Topicality.** Incidental products of soy processing (okara, meal, millcake) contain a large amount of protein, and, additionally, other valuable biologically active substances. Among them, isoflavones are of particular researchers' interest. Subcritical water extraction is a promising method for elicitation biologically active substances from plant raw material. However, such a method of extracting isoflavones, and its rational parameters for soy meal, remain insufficiently investigated. **Aim and methods.** The aim of this work is to study the influence of parameters (temperature: 120...160°C, duration of extraction: 5...15 min, hydromodule: 1:15...25) of the extracting process of soy meal with subcritical water on the isoflavones content in the dry material of the extract. The empirical research method is applied, using the second-order orthogonal compositional outline for a fractional factor experiment. The samples of soy meal extract are obtained using the experimental setup, based on the high-pressure reactor "RHP-2-500". The total isoflavones content in the dry extract material is defined in terms of gallic acid with absorption spectrophotometry method. **Results.** Based on the obtained results, the quadratic interpolation model is constructed. This model links the total isoflavones content in the dry extract material with the extraction parameters. The analysis of the constructed model makes it possible to establish rational measures of extraction parameters. **Conclusions and discussion.** In this study, the intensive growth of soflavones content in the dry extract with highing the temperature process, and a relatively small influence of the process duration on this indicator, were defined. The influence of the hydromodule is ambiguous. The lowest yield of isoflavones is noted at hydromodule  $\approx 1:21,41$ . Its increase or decrease lead to the growth of isoflavones content in the extract. In this paper, for the first time, the existence of rational measures of parameters in the process of extracting isoflavones with subcritical water from soy meal is studied and established. The obtained results can be used in the elaboration of the technology for producing isoflavones enriched soy protein concentrate.

**Keywords:** extraction, subcritical water, biologically active substances, isoflavones, soy meal.