

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**Вовк Ганна Олександрівна**

(прізвище, ім'я, по батькові)

УДК 665.3:635.62:663.15–048.78(043.5)

(індекс)

**ДИСЕРТАЦІЯ**  
**УДОСКОНАЛЕННЯ ТЕХНОЛОГІЇ ПРЕСОВОГО ВИЛУЧЕННЯ**  
**ГАРБУЗОВОЇ ОЛІЇ ЗА ДОПОМОГОЮ ФЕРМЕНТНИХ ПРЕПАРАТІВ**

(назва дисертації)

Спеціальність 181 «Харчові технології»

(шифр і назва спеціальності)

18 «Виробництво та технології»

(галузь знань)

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

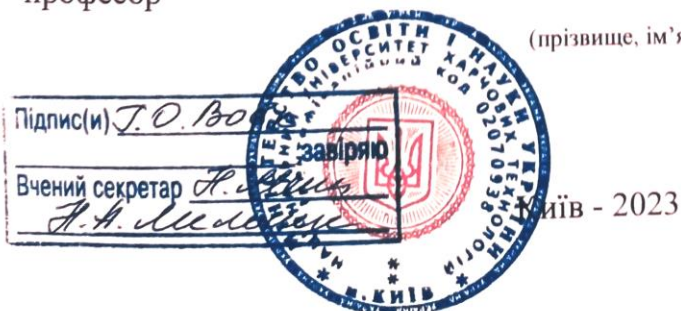
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 Г.О. Вовк

(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник  Носенко Тамара Тихонівна, доктор технічних наук, професор

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)



## АНОТАЦІЯ

*Вовк Г. О.* Удосконалення технології пресового вилучення гарбузової олії за допомогою ферментних препаратів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 181 «Харчові технології». – Національний університет харчових технологій, Київ, 2023.

Як відомо, у світовій практиці на сьогоднішній день існує два загальновідомі способи вилучення олії з олієвмісної сировини: пресування – механічний віджим олії за допомогою пресу та екстракція – вилучення олії з матеріалу розчинником.

Екстракційний спосіб є більш ефективним, він дозволяє вилучати більше олії з олійного матеріалу порівняно з пресовим методом. Однак, технологія екстракції передбачає використання органічних розчинників, що є небезпечним для життя та здоров'я людини, оскільки такі розчинники є вибухо- та пожежонебезпечними, а їх пари є токсичними, при вдиханні можуть викликати отруєння. Крім того, потрапляння їх парів у навколишнє середовище також є негативним явищем з точки зору екології, оскільки вони реагують із забруднюючими речовинами в повітрі та утворюють озонові і фотохімічні речовини. Олія, яку одержують методом екстракції, повинна обов'язково піддаватись рафінації, що зумовлює втрату нею більшості її біологічно цінних сполук.

Водночас пресовий спосіб є більш екологічно чистим та пожежобезпечнішим, на відміну від екстракції, а також дозволяє зберегти цінні природні компоненти в одержаних оліях (особливо холодним пресуванням). Однак, пресовий метод не дозволяє повністю вилучити олію з олійного матеріалу, в ньому завжди залишається значний відсоток вмісту олії. Саме тому актуальним є пошук технологій, які б дозволили

інтенсифікувати процес пресового вилучення олії, але при цьому не призвели до погіршення її якості. Серед таких технологій перспективною є обробка олійного матеріалу перед пресуванням гідролітичними ферментами з протеолітичною, целюлолітичною, геміцелюлолітичною та пектолітичною активністю, яка здатна не лише сприяти збільшенню виходу олії, а й підвищувати її харчову цінність за рахунок збільшення переходу в олію біологічно активних речовин олійного насіння, зокрема, таких як токоферолі та фітостеролі.

Практичне значення одержаних результатів для олієжирової галузі полягає у розробленні технології обробки м'ятки гарбузового насіння сумішами ферментних препаратів із протеолітичною, целюлолітичною, геміцелюлолітичною та пектолітичною активністю для підвищення ефективності пресового вилучення олії.

Традиційна технологія пресового вилучення олії з матеріалу зазвичай включає такі стадії як очищення насіння від домішок, відділення насіннєвих оболонок (за необхідності), подрібнення, волого-теплову обробку та пресування. В технології, запропонованій у даній роботі, передбачається суміщення стадії попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння зі стадією його волого-теплової обробки.

Відомо, що олія в клітинах насіння міститься у вигляді ліпідних тіл (олеосом), оболонка яких утворена складними сполуками білкової природи та представниками фосфоліпідів. В той же час олеосоми зовні захищені пектиновим і лігноцелюлозним матриксом клітинних стінок насіння. Ліпідні тіла в клітинах насіння «вплетені» в цитоплазматичну мембрану, яка складається з білків. Самі ж стінки клітин складаються переважно із лігніну та полісахаридів, таких як целюлоза, геміцелюлози, та пектини, однак містять також і значну кількість багатих гідроксипроліном глікопротеїнів та комплексів арабіногалактанів з протеїнами. Руйнування таких оболонок потребує значних витрат енергії, і тому для повного вилучення олії з

матеріалу не достатньо дії лише механічних та фізичних сил. Гідролітичні ферменти є потужними каталізаторами біохімічних реакцій розпаду різних складних органічних сполук. Зокрема, препарати з протеолітичною активністю зумовлюють розпад білкових сполук, а також ліпопротеїдних комплексів, які є структурними компонентами клітинних мембран та оболонок олійних тіл. Водночас, препарати з целюлолітичною, геміцелюлолітичною та пектолітичною активністю каталізують руйнування відповідних їм полісахаридів, які є структурними компонентами стінок клітин олійного насіння. Крім того, під час ферментативного гідролізу руйнуються комплексні сполуки токоферолів та фітостеролів з полісахаридами насіння, що спричиняє проникнення цих біологічно цінних сполук у олійну фазу. Таким чином, обробка гарбузового насіння гідролітичними ферментами у поєднанні з традиційною технологією пресування може інтенсифікувати дію механічних та фізичних сил, спрямованих на максимальне руйнування структурних компонентів матеріалу та вивільнення з нього олії, а також підвищити біологічну цінність та антиоксидантні властивості одержаної олії за рахунок збільшення вмісту в ній токоферолів та фітостеролів. Високій окислювальній стійкості такої олії також сприяє зменшення вмісту в ній пероксидних сполук, що може бути спричинене інактивацією ліпоксигеназ насіння внаслідок їх гідролізу протеолітичними ферментами.

На підставі проведеного літературного огляду встановлено, що гарбузова олія є надзвичайно цінним джерелом антиоксидантів та інших біологічно активних речовин, що обумовлює її корисні властивості у лікуванні та профілактиці багатьох захворювань. Існує велика кількість перспективних способів одержання олії з насіння гарбузів. Результати попередніх досліджень, проведених вченими для інших олійних культур підтверджують необхідність подальшого вивчення та вдосконалення ферментативної технології переробки рослинної сировини.

Робоча гіпотеза дисертаційної роботи полягає в тому, що використання ферментативної обробки олійного насіння перед пресуванням дозволить збільшити вихід олії внаслідок інтенсифікації ферментами процесів руйнування клітинної структури олійного матеріалу. На підставі цього, основними завданнями роботи є дослідження дії протеолітичних, целюлолітичних, геміцелюлолітичних та пектолітичних ферментів на клітинну структуру насіння гарбузів, підбір оптимальних параметрів попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння, визначення впливу технології на якість, склад та антиоксидантні властивості одержаної олії.

Проведеними експериментальними дослідженнями в лабораторних умовах запропонована гіпотеза набула підтверджень відносно того, що за допомогою дії ферментів вдається досягти вищого ступеню руйнування клітинної структури олійного матеріалу та вивільнити більшу кількість олії, порівняно з традиційними методами вилучення олії, при цьому не спричинивши погіршення її якості та втрату нею біологічно цінних компонентів, та, водночас, покращивши її антиоксидантні властивості.

На основі аналізу науково-технічної літератури, виконаних експериментальних досліджень, математичного моделювання та теоретичних узагальнень одержаних результатів виконано конкретне наукове завдання щодо удосконалення технології пресового вилучення олії з насіння гарбузів за допомогою біотехнологічних методів.

За результатами проведених досліджень було визначено раціональні параметри обробки м'ятки насіння гарбуза звичайного кислою протеазою та целюлазою. Було встановлено, що застосування обробки м'ятки сумішшю цих ферментів, взятих у співвідношенні 7:3, відповідно, при рН 5,2 дозволяє одержати максимальний кількісний вихід олії (60,3 %) та максимальний вміст у ній токоферолів (208,53 мкг/г), порівняно з іншими зразками того

самого олійного матеріалу, обробленого ферментами за інших умов або у контрольних умовах.

Встановлено, що обробка насіння гарбуза звичайного ферментними препаратами із протеолітичною та геміцелюлолітичною активністю сприяє підвищенню ефективності вилучення з нього олії пресовим способом. Зокрема, значний вплив на ефективність пресового вилучення олії з гарбузового насіння було виявлено під час його обробки ферментною сумішшю Флавозим+Пентопан 500 BG при рН 5,2, вихід пресової олії при цьому збільшився на 10,7 %, порівняно з контрольним зразком.

Проведеними дослідженнями впливу дії ферментів на клітинну структуру олійного матеріалу було доведено, що обробка гарбузового насіння окремими ферментами, такими як пепсин, папаїн, Віскозим, целюлаза та пектиназа, сприяла вилученню з нього олії методом «миттєвого збовтування», кількість «зруйнованих» клітин в усіх оброблених різними ферментами зразках насіння гарбуза голонасінного була вищою та варіювала в межах від 67,6 до 69,5 %, порівняно з кількістю «зруйнованих» клітин контрольних зразків (64,4 %). Визначено також, що всі варіанти попередньої обробки насіння гарбуза голонасінного сумішами цих ферментів призводять до збільшення кількості «зруйнованих» клітин порівняно з контрольними зразками. Найбільшу кількість «зруйнованих» клітин - 71,0 та 71,1 % - було виявлено у зразках, оброблених сумішами пепсин+Віскозим+пектиназа та пепсин+целюлаза+пектиназа, відповідно, що на 6,6 % більше, ніж у контрольних зразках. Встановлено, що збільшення кількості доданої ферментної суміші понад 1,8 % не призводить до збільшення кількості «зруйнованих» клітин.

За результатами досліджень методом світлової мікроскопії було визначено, що найбільший вплив на мікроструктуру гарбузового насіння має попередня обробка ферментною сумішшю пепсин+Віскозим+пектиназа, що призводить до практично повного розщеплення та зникнення клітинних

стінок зрізу насінини, руйнування олеосом та коагуляції вільної олії. Значного ефекту зміни мікроструктури клітин гарбузового насіння можна також досягти шляхом обробки окремим ферментним препаратом Віскозим, оскільки він вже є сумішшю різних ферментів (целюлази,  $\beta$ -глюканаза, геміцелюлази), що дозволяє зруйнувати значну частину клітин і вивільнити з них більшу частину олійних тіл.

Встановлено, що попередня ферментативна обробка насіння гарбуза голонасінного ферментною сумішшю пепсин+Віскозим+пектиназа сприяє збільшенню виходу пресової олії на 7,0 % порівняно з контрольними зразками, а вихід олії, розрахований до загального вмісту олії в насінні, на 14,3 % вищий, ніж у контрольних зразках.

Визначено основні технологічні параметри, які мають суттєвий вплив на процес пресування. Для оптимізації технологічного процесу було обрано такі фактори: кількість ферментної суміші для обробки насіння (%), кількість внесеної з ферментами вологи (%). Експериментальними дослідженнями визначено, що раціональними параметрами для попередньої ферментативної обробки насіння гарбузів сумішшю ферментних препаратів з протеолітичною та целюлолітичною активністю є: кількість внесеної ферментної суміші 0,6 % та кількість внесеної з ферментами вологи 35 % від маси насіння. Використання таких технологічних параметрів надало можливість вилучити 65,6 % олії, що майже на 6 % вище, ніж у зразкові, обробленому за тих самих умов без додавання ферментів.

Обґрунтовано поліноміальну регресійну модель залежності кількісного виходу пресової олії від параметрів ферментативної обробки гарбузового насіння та побудовано поверхню відгуку функції.

Встановлено, що попередня ферментативна обробка насіння гарбузів не має суттєвого впливу на фізико-хімічні показники якості та склад одержаної пресової олії, водночас сприяючи підвищенню її антиоксидантної активності, вираженої гасінням радикалів DPPH<sup>o</sup>, а також збільшенню вмісту

в ній токоферолів та деякому збільшенню вмісту стигмастеролу, що зумовлює підвищення біологічної цінності такої олії.

Розроблено апаратурно-технологічну схему та технологічну карту виробництва гарбузової олії методом однократного пресування із використанням попередньої ферментативної обробки м'ятки гарбузового насіння.

Ключові слова: антиоксидантні властивості, гарбузове насіння, гарбузова олія, гідролітичні ферменти, «зруйновані» клітини, попередня ферментативна обробка, пресування.

#### Список публікацій здобувача

1. Vovk H, Karnpakdee K, Golubets O, Levchuk I, Ludwig R, Nosenko T. Application of enzymes for pressed oil production from pumpkin seeds. Ukr Food J. 2023;12(1):21-37. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2023-12-1-4>

2. Вовк Г. О., Носенко Т. Т. Вплив параметрів ферментативної обробки на вихід пресової гарбузової олії та її властивості. Наукові праці НУХТ. 2023;29(1):108-118. DOI: 10.24263/2225-2924-2023-29-1-10

3. Патент України UA № 120692 Спосіб попередньої ферментативної обробки мятки насіння гарбуза звичайного. Автори: Носенко Т.Т., Вовк Г.О., Королюк Т.А., Бабенко В.І., Бахмач В.О. № а 201900465, заявл. 17.01.2019, опубл. 10.01.2020, Бюл. №1.

4. Nosenko T, Vovk G, Koroluk T. Effect of hydrolytic enzymes pretreatment on the oil extraction from pumpkin seeds. Ukr Food J. 2019;8(1):80-88. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2019-8-1-9>

5. Nosenko T, Koroluk T, Usatuk S, Vovk G, Kostinova T. Comparative study of walnut and pumpkin seeds oils biological value and oxidative stability. Food Sci Technol. 2019;13(1):60-65. <https://doi.org/10.15673/fst.v13i1.1311>

6. Носенко Т.Т., Вовк Г.О., Королюк Т.А., Голубець О.В. Вплив попередньої ферментативної обробки насіння на склад пресової гарбузової

олії. Наукові праці НУХТ. 2018;24(5):244-251. DOI: 10.24263/2225-2924-2018-24-5-30

7. Вовк Г. О., Носенко Т. Т. Вплив ферментативної обробки на мікроструктуру насіння гарбуза голонасінного // Матеріали 88 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (м. Київ, НУХТ, квітень – травень 2022 р.). – С. 269.

8. Вовк Г. О., Носенко Т. Т. Порівняльний аналіз антиоксидантної здатності нетрадиційних олій // Матеріали 87 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (м. Київ, НУХТ, 15-16 квітня 2021 р.). – С. 341.

9. Носенко Т. Т., Вовк Г. О., Гудзенко О. В. «Дослідження впливу кількості вологи, внесеної під час попередньої ферментативної обробки насіння, на ефективність вилучення пресової гарбузової олії» // Програма та тези матеріалів IX Міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції» (м. Київ, НУХТ, 10-11 листопада 2020 р.). – С. 281-282.

10. Вовк Г. О., Носенко Т. Т., Гудзенко О. В. Дослідження впливу гідролітичних ферментів із протеолітичною та ксилолітичною активністю на ефективність пресового вилучення олії з гарбузового насіння // Матеріали XIV наукової конференції молодих вчених «Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві» (м. Чернігів, 27–28 жовтня 2020 р.). – С. 138-140.

11. Вовк Г. О., Носенко Т. Т. Вплив попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння на вихід пресової олії та її хімічний склад // Матеріали Міжнародної конференції «Якість і безпечність харчової продукції і сировини – проблеми сьогодення» (м. Львів, 25 вересня 2020 р.). – С. 207-209.

12. Носенко Т.Т., Вовк Г.О. «Дослідження впливу попередньої ферментативної обробки на склад пресової конопляної олії» // Програма та тези матеріалів VIII Міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції» (м. Київ, НУХТ, 5-6 листопада 2019 р.). – С. 397-398.

13. Носенко Т.Т., Вовк Г.О., Королюк Т.А., Голубець О.В. «Підвищення ефективності вилучення олії з олійного матеріалу за рахунок його попередньої обробки ферментами» // Програма та тези матеріалів VII Міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції» (м. Київ, НУХТ, 7-8 листопада 2018 р.). – С. 251-252.

14. Вовк Г.О., Носенко Т.Т. Вплив протеолітичних ферментів на цілісність клітин олійного матеріалу. // Матеріали 84 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (м. Київ, НУХТ, 23–24 квітня 2018 р.). – С. 425.

15. Патент на корисну модель UA № 135285 Спосіб попередньої ферментативної обробки мятки насіння гарбуза звичайного. Автори: Носенко Т.Т., Вовк Г.О., Королюк Т.А., Бабенко В.І., Бахмач В.О. № у 201900466, заявл. 17.01.2019, опубл. 25.06.2019, Бюл. №12.

16. Патент на корисну модель UA № 129072 Спосіб підготовки гарбузового насіння до вилучення олії. Автори Т.Т. Носенко, Г.О. Вовк, Т.А. Королюк, С.І. Усатюк, Т.А. Костінова № у 201802519, заявл. 13.03.2018, опубл. 25.10.2018, Бюл. № 20.

17. Патент на корисну модель UA № 128203 Соняшниково-конопляна купажована олія. Автори Носенко Т.Т., Бабенко В.І., Вовк Г.О. № у 201802521, заявл. 13.03.2018, опубл. 10.09.2018, Бюл. №17.

18. Патент на корисну модель UA №128202 Нерафінована соняшниково-конопляна купажована олія. Автори Носенко Т.Т., Бабенко В.І., Вовк Г.О. № u 201802520, заявл. 13.03.2018, опубл. 10.09.2018, Бюл. №17.

## SUMMARY

Vovk H. O. Improvement of pumpkin seed press oil recovery using enzyme preparations.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the specialty 181 "Food Technologies." - National University of Food Technologies, Kyiv, 2023.

It is known that in world practice today there are two well-known methods of extracting oil from oleaginous material: pressing - mechanical squeezing of oil using a press and extraction - extraction of oil from the material with a solvent.

The extraction method is more efficient, as it allows extracting more oil from the oilseed material compared to the pressing method. However, the extraction technology involves the use of organic solvents, which is dangerous to human life and health, as such solvents are explosive and fire hazardous, and their vapors are toxic and can cause poisoning if inhaled. In addition, the release of their vapors into the environment is also a negative environmental impact, as they react with air pollutants to form ozone and photochemicals. Oil obtained by extraction must be refined, which causes it to lose most of its biologically valuable compounds.

At the same time, the pressing method is more environmentally friendly and fireproof, unlike extraction, and also allows preserving valuable natural components in the resulting oils (especially by cold pressing). However, the pressing method does not allow for complete extraction of oil from the oilseed material, and a significant percentage of oil content always remains. That is why it is important to search for technologies that would intensify the process of pressing oil extraction, but would not lead to a deterioration in its quality. Among such technologies, the treatment of oilseeds before pressing with hydrolytic enzymes with proteolytic, cellulolytic, hemicellulolytic and pectolytic activity is promising, which can not only increase the yield of oil, but also increase its nutritional value

by increasing the transfer of biologically active substances of oilseeds, in particular, such as tocopherols and phytosterols, to oil.

The practical significance of the results obtained for the oil and fat industry is to develop a technology for processing pumpkin seed flakes with mixtures of enzyme preparations with proteolytic, cellulolytic, hemicellulolytic, and pectolytic activity to increase the efficiency of pressing oil extraction.

The traditional technology of pressing oil extraction from the material usually includes such stages as seed cleaning from impurities, separation of seed hulls (if necessary), grinding, moisture and heat treatment, and pressing. The technology proposed in this paper involves combining the stage of enzymatic pretreatment of pumpkin seeds with the stage of their moisture and heat treatment.

It is known that oil in seed cells is contained in the form of lipid bodies (oleosomes), the shell of which is formed by complex protein compounds and phospholipids. At the same time, the oleosomes are protected from the outside by the pectin and lignocellulose matrix of the seed cell walls. Lipid bodies in seed cells are "woven" into the cytoplasmic membrane, which consists of proteins. The cell walls themselves consist mainly of lignin and polysaccharides such as cellulose, hemicellulose, and pectin, but also contain a significant amount of hydroxyproline-rich glycoproteins and complexes of arabinogalactans with proteins. The destruction of such membranes requires significant energy expenditure, and therefore, mechanical and physical forces alone are not sufficient to fully extract oil from the material. Hydrolytic enzymes are powerful catalysts for biochemical reactions of the breakdown of various complex organic compounds. In particular, drugs with proteolytic activity cause the breakdown of protein compounds and lipoprotein complexes, which are structural components of cell membranes and oil body membranes. At the same time, preparations with cellulolytic, hemicellulolytic and pectolytic activity catalyze the destruction of their corresponding polysaccharides, which are structural components of oilseed cell walls. In addition, enzymatic hydrolysis destroys complex compounds of

tocopherols and phytosterols with seed polysaccharides, which causes the penetration of these biologically valuable compounds into the oil phase. Thus, the treatment of pumpkin seeds with hydrolytic enzymes in combination with traditional pressing technology can intensify the action of mechanical and physical forces aimed at maximizing the destruction of the structural components of the material and the release of oil from it, as well as increase the biological value and antioxidant properties of the resulting oil by increasing the content of tocopherols and phytosterols. The high oxidative stability of such oil is also facilitated by a decrease in the content of peroxide compounds in it, which may be caused by the inactivation of seed lipoxygenases due to their hydrolysis by proteolytic enzymes.

Based on the literature review, it was found that pumpkin seed oil is a very valuable source of antioxidants and other biologically active substances, which determines its beneficial properties in the treatment and prevention of many diseases. There are a large number of promising ways to produce oil from pumpkin seeds. The results of previous studies conducted by scientists for other oilseeds confirm the need for further study and improvement of the enzymatic technology of processing plant materials.

The working hypothesis of the dissertation is that the use of enzymatic treatment of oilseeds before pressing will increase the oil yield due to the intensification of enzyme destruction of the cellular structure of the oilseed material. Based on this, the main objectives of the work are to study the effect of proteolytic, cellulolytic, hemicellulolytic and pectolytic enzymes on the cell structure of pumpkin seeds, to select optimal parameters of enzymatic pretreatment of pumpkin seeds, to determine the effect of the technology on the quality, composition and antioxidant properties of the resulting oil.

Experimental studies in the laboratory have confirmed the proposed hypothesis that enzymes can achieve a higher degree of destruction of the cellular structure of the oil material and release more oil than traditional methods of oil

extraction, without causing deterioration in oil quality and loss of biologically valuable components, and at the same time improving its antioxidant properties.

Based on the analysis of scientific and technical literature, experimental studies, mathematical modeling, and theoretical generalizations of the results obtained, a specific scientific task was performed to improve the technology of pressing oil extraction from pumpkin seeds using biotechnological methods.

Based on the results of the study, the rational parameters of the treatment of common pumpkin seed flakes with acid protease and cellulase were determined. It was found that the use of flakes treatment with a mixture of these enzymes, taken in a ratio of 7:3, respectively, at pH 5.2, allows to obtain the maximum quantitative yield of oil (60.3 %) and the maximum content of tocopherols (208.53 µg/g) in comparison with other samples of the same oil material treated with enzymes under other conditions or in control conditions.

It was found that the treatment of common pumpkin seeds with enzyme preparations with proteolytic and hemicellulolytic activity increases the efficiency of oil extraction from them by the press method. In particular, a significant effect on the efficiency of pressing oil extraction from pumpkin seeds was found during its treatment with the enzyme mixture Flavourzyme+Pentopan 500 BG at pH 5.2, the yield of pressed oil increased by 10.7 % compared to the control sample.

Studies of the effect of enzymes on the cellular structure of the oil material have shown that the treatment of pumpkin seeds with certain enzymes, such as pepsin, papain, Viscosym, cellulase and pectinase, contributed to the extraction of oil from them by the "instant shaking" method, the number of "destroyed" cells in all samples of naked pumpkin seeds treated with different enzymes was higher and ranged from 67.6 to 69.5 %, compared to the number of "destroyed" cells of control samples (64.4 %). It was also determined that all variants of pretreatment of naked pumpkin seeds with mixtures of these enzymes lead to an increase in the number of "destroyed" cells compared to control samples. The largest number of "destroyed" cells - 71.0 and 71.1 % - was found in the samples treated with

mixtures of pepsin+Viscozyme+pectinase and pepsin+cellulase+pectinase, respectively, which is 6.6 % more than in the control samples. It was found that an increase in the amount of the added enzyme mixture above 1.8 % does not lead to an increase in the number of "destroyed" cells, which is probably due to the saturation of the active centers of the substrate with the enzyme.

According to the results of light microscopy studies, it was determined that pretreatment with the enzyme mixture pepsin+Viscozyme+pectinase has the greatest effect on the microstructure of pumpkin seeds, leading to almost complete cleavage and disappearance of the cell walls of the seed section, destruction of oleosomes and coagulation of free oil. A significant effect of changing the microstructure of pumpkin seed cells can also be achieved by treatment with a separate enzyme preparation Viscozyme, since it is already a mixture of different enzymes (cellulase,  $\beta$ -glucanase, hemicellulase), which allows to destroy a significant part of the cells and release most of the oil bodies from them.

It was found that the enzymatic pretreatment of naked pumpkin seeds with the enzyme mixture pepsin+Viscozyme+pectinase increases the yield of pressed oil by 7.0 % compared to control samples, and the oil yield calculated to the total oil content in the seeds is 14.3 % higher than in control samples.

The main technological parameters that have a significant impact on the pressing process were determined. The following factors were chosen to optimize the technological process: the amount of enzyme mixture for seed treatment (%), the amount of moisture added with enzymes (%). Experimental studies have determined that the rational parameters for the enzymatic pretreatment of pumpkin seeds with a mixture of enzyme preparations with proteolytic and cellulolytic activity are: the amount of the enzyme mixture applied is 0.6 % and the amount of moisture applied with enzymes is 35 % of the seed weight. The use of such technological parameters made it possible to extract 65.6 % of oil, which is almost 6 % higher than in the sample processed under the same conditions without the addition of enzymes.

The polynomial regression model of the dependence of the quantitative yield of pressed oil on the parameters of enzymatic treatment of pumpkin seeds was substantiated and the response surface of the function was constructed.

It was found that the enzymatic pretreatment of pumpkin seeds has no significant effect on the physicochemical quality parameters and composition of the resulting pressed oil, while contributing to an increase in its antioxidant activity, expressed by the absorption of DPPH° radicals, as well as an increase in the content of tocopherols and a slight increase in the content of stigmasterol, which leads to an increase in the biological value of such oil.

A hardware and technological scheme and a flow chart for the production of pumpkin seed oil by the method of single pressing using enzymatic pretreatment of pumpkin seed flakes have been developed.

Keywords: antioxidant properties, pumpkin seeds, pumpkin seed oil, hydrolytic enzymes, "destroyed" cells, enzymatic pretreatment, pressing.

#### List of publications

1. Vovk H, Karnpakdee K, Golubets O, Levchuk I, Ludwig R, Nosenko T. Application of enzymes for pressed oil production from pumpkin seeds. Ukr Food J. 2023;12(1):21-37. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2023-12-1-4>

2. Vovk H, Nosenko T. Influence of enzymatic treatment parameters on the press pumkin oil yeild and its properties. Scientific Works of NUFT. 2023;29(1):108-118. DOI: 10.24263/2225-2924-2023-29-1-10

3. Patent of Ukraine UA № 120692 Method of enzymatic pretreatment of pumpkin seed flakes. Authors: Nosenko T.T., Vovk H.O., Korolyuk T.A., Babenko V.I., Bakhmach V.O. № a 201900465, application. January 17, 2019, published on January 10, 2020, Bull. №1.

4. Nosenko T, Vovk G, Koroluk T. Effect of hydrolytic enzymes pretreatment on the oil extraction from pumpkin seeds. Ukr Food J. 2019;8(1):80-88. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2019-8-1-9>

5. Nosenko T, Koroluk T, Usatuk S, Vovk G, Kostinova T. Comparative study of walnut and pumpkin seeds oils biological value and oxidative stability. Food Sci Technol. 2019;13(1):60-65. <https://doi.org/10.15673/fst.v13i1.1311>

6. Nosenko T, Vovk G, Koroluk T, Golubec O. Influence of the preveous enzymatic treatment of seeds on the composition of press pumpkin seed oil. Scientific Works of NUFT. 2018;24(5):244-251. DOI: 10.24263/2225-2924-2018-24-5-30

7. 88 International scientific conference of young scientists and students "Youth scientific achievements to the 21st century nutrition problem solution", Kyiv, Ukraine, April-May 2022 – Poster award for “Effect of enzymatic treatment on the hull-less pumpkin seed microstructure”.

8. 87 International scientific conference of young scientists and students "Youth scientific achievements to the 21st century nutrition problem solution", Kyiv, Ukraine, Apr. 2021, “Comparative analysis of the antioxidant capacity of non-traditional oils”.

9. IX International Scientific and Technical Conference "Scientific problems of food technology and industrial biotechnology in the context of European integration", Kyiv, Ukraine, Nov. 2020, “Study of the influence of the moisture amount introduced during the oilseed enzymatic pretreatment on the efficiency of press pumpkin seed oil extraction”.

10. XIV Scientific conference of young scientists "Microbiology in modern agricultural production", Chernihiv, Ukraine, Oct. 2020, “Study of the influence of hydrolytic enzymes with proteolytic and xylolytic activity on the efficiency of press extraction of oil from pumpkin seeds”.

11. International conference "The quality and safety of food products and material are today's problems", Lviv, Ukraine, Sept. 2020, “The influence of the pre-enzymatic treatment of pumpkin seeds on the yield of pressed oil and its chemical composition”.

12. VIII International Scientific and Technical Conference "Scientific problems of food technology and industrial biotechnology in the context of European integration", Kyiv, Ukraine, Nov. 2019, "Investigation of the effect of pre-enzymatic treatment on the composition of pressed hemp seed oil".

13. VII International Scientific and Technical Conference "Scientific problems of food technology and industrial biotechnology in the context of European integration", Kyiv, Ukraine, Nov. 2018, "Improving the efficiency of oil extraction from oil material due to its pretreatment with enzymes".

14. 84 International scientific conference of young scientists and students "Youth scientific achievements to the 21st century nutrition problem solution", Kyiv, Ukraine, Apr. 2018, "Effect of proteolytic enzymes on the integrity of oil material cells".

15. Patent for utility model UA № 135285 Method of enzymatic pretreatment of pumpkin seed flakes. Authors: Nosenko T.T., Vovk H.O., Korolyuk T.A., Babenko V.I., Bakhmach V.O. № u 201900466, application. January 17, 2019, publ. June 25, 2019, Bull. №12.

16. Patent for utility model UA № 129072 Method preparation of pumpkin seeds for oil extraction. Authors Nosenko T.T., Vovk H.O., Korolyuk T.A., Usatiuk S.I., Kostinova T.A. № u 201802519, application. March 13, 2018, published on October 25, 2018, Bull. № 20.

17. Patent for utility model UA № 128203 Sunflower-hemp purchased oil. Authors Nosenko T.T., Babenko V.I., Vovk H.O. № u 201802521, application. March 13, 2018, published on September 10, 2018, Bull. №17.

18. Patent for utility model UA №128202 Unrefined sunflower-hemp purchased oil. Authors Nosenko T.T., Babenko V.I., Vovk H.O. № u 201802520, application. March 13, 2018, published on September 10, 2018, Bull. №17.

## ЗМІСТ

|                                                                                                                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Вступ.....                                                                                                                                                                     | 24 |
| Розділ 1. Сучасний стан досліджень щодо використання ферментів у технологіях переробки олійного насіння.....                                                                   | 31 |
| 1.1. Хімічний склад та біологічна цінність плодів гарбузів та гарбузового насіння .....                                                                                        | 31 |
| 1.2. Методи вилучення олії із олійного насіння.....                                                                                                                            | 36 |
| 1.3. Перспективні напрямки вилучення олії з олійного насіння.....                                                                                                              | 39 |
| 1.3.1. Вплив параметрів підготовки гарбузового насіння до пресового вилучення олії за традиційною технологією на ефективність процесу та на склад і якість одержаної олії..... | 39 |
| 1.3.2. Використання нових розчинників для сольвентного екстрагування олії із олійної сировини.....                                                                             | 43 |
| 1.3.3. Використання ферментів для руйнування цілісності клітин олійного насіння.....                                                                                           | 45 |
| 1.3.4. Технологія водно-ферментативного екстрагування олії.....                                                                                                                | 46 |
| 1.3.5. Дослідження впливу попередньої ферментативної обробки на ефективність вилучення олії пресовим та екстракційним методами.....                                            | 59 |
| 1.3.6. Вплив попередньої ферментативної обробки на склад, якість та вміст біологічно цінних речовин в олії.....                                                                | 66 |
| 1.4. Постановка мети та завдань дослідження .....                                                                                                                              | 72 |
| Розділ 2. Характеристики об'єктів досліджень, методики проведення експериментів.....                                                                                           | 73 |
| 2.1. Характеристика об'єктів досліджень.....                                                                                                                                   | 74 |
| 2.2. Методи досліджень.....                                                                                                                                                    | 77 |
| 2.2.1. Методика проведення волого-теплової та попередньої ферментативної обробки олійного насіння .....                                                                        | 77 |
| 2.2.2. Визначення кількості «зруйнованих» клітин у гарбузовій меззі методом «миттєвого збовтування».....                                                                       | 80 |

|                                                                                                                                                                                                                                    |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 2.2.3. Методика проведення пресування олійного матеріалу.....                                                                                                                                                                      | 81  |
| 2.2.4. Методика проведення повного факторного експерименту.....                                                                                                                                                                    | 81  |
| 2.2.5. Методика дослідження впливу ферментативної обробки на мікроструктуру гарбузового насіння.....                                                                                                                               | 90  |
| 2.2.6. Методи визначення показників якості олійного насіння, мезги та пресової макухи.....                                                                                                                                         | 90  |
| 2.2.7. Методи визначення показників якості та антиоксидантної здатності олії.....                                                                                                                                                  | 91  |
| 2.2.8. Метод визначення жирнокислотного складу олії.....                                                                                                                                                                           | 92  |
| 2.2.9. Метод визначення складу стеролів олії.....                                                                                                                                                                                  | 93  |
| 2.2.10. Метод визначення ізомерного складу токоферолів олії.....                                                                                                                                                                   | 94  |
| Розділ 3. Дослідження впливу композиційного складу суміші ферментних препаратів та параметрів попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння на ефективність пресового вилучення олії. Оптимізація параметрів процесу..... | 95  |
| 3.1. Дослідження впливу рН середовища та співвідношення протеолітичних і целюлолітичних ферментів у ферментній суміші на ефективність пресового вилучення олії з гарбузового насіння.....                                          | 96  |
| 3.2. Дослідження впливу композиційного складу суміші ферментних препаратів на ефективність пресового вилучення олії з гарбузового насіння.....                                                                                     | 100 |
| 3.3. Дослідження впливу кількості ферментної суміші та кількості внесеної з ферментами вологи на ефективність пресового вилучення олії з гарбузового насіння.....                                                                  | 102 |
| 3.4. Дослідження впливу кількості ферментної суміші та кількості внесеної з ферментами вологи на фізико-хімічні показники якості пресової гарбузової олії.....                                                                     | 105 |
| 3.5. Дослідження впливу кількості ферментної суміші та кількості внесеної з ферментами вологи на антиоксидантні властивості пресової                                                                                               |     |

|                                                                                                                                                                           |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| гарбузової олії.....                                                                                                                                                      | 106 |
| 3.6. Визначення раціональних технологічних параметрів попередньої ферментативної обробки м'ятки гарбузового насіння методом планування трьох факторного експерименту..... | 108 |
| 3.7. Висновки за розділом 3.....                                                                                                                                          | 112 |
| Розділ 4. Дослідження впливу попередньої ферментативної обробки на клітинну структуру гарбузового насіння та вихід олії.....                                              | 114 |
| 4.1. Дослідження впливу попередньої обробки окремими ферментними препаратами на цілісність клітин гарбузового насіння.....                                                | 115 |
| 4.2. Дослідження впливу попередньої обробки ферментними сумішами на цілісність клітин гарбузового насіння.....                                                            | 117 |
| 4.3. Дослідження впливу попередньої ферментативної обробки на мікроструктуру гарбузового насіння.....                                                                     | 119 |
| 4.4. Дослідження впливу попередньої ферментативної обробки на пресовий вихід гарбузової олії та вміст залишкової олії в макусі.....                                       | 121 |
| 4.5. Дослідження впливу попередньої ферментативної обробки на якість одержаної гарбузової олії та її антиоксидантну активність.....                                       | 124 |
| 4.6. Дослідження впливу ферментативної обробки на жирнокислотний склад олії з насіння гарбузів.....                                                                       | 127 |
| 4.7. Дослідження впливу ферментативної обробки на фітостероловий склад олії з насіння гарбузів.....                                                                       | 129 |
| 4.8. Висновки за розділом 4.....                                                                                                                                          | 130 |
| Розділ 5. Практичні рекомендації щодо удосконалення технології переробки насіння гарбузів із використанням попередньої ферментативної обробки.....                        | 133 |
| 5.1. Висновки за розділом 5.....                                                                                                                                          | 136 |
| Висновки.....                                                                                                                                                             | 137 |
| Список використаних джерел.....                                                                                                                                           | 139 |
| Додатки.....                                                                                                                                                              | 155 |

|                                                                                   |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Додаток А Акт апробації результатів у навчальний процес.....                      | 155 |
| Додаток Б Хроматограми визначення жирнокислотного складу<br>гарбузової олії ..... | 157 |
| Додаток В Хроматограми визначення складу стеролів гарбузової олії ...             | 158 |
| Додаток Г Розрахунок економічної ефективності .....                               | 159 |
| Додаток Д Патенти на винахід і корисну модель .....                               | 161 |
| Додаток Е Список наукових публікацій .....                                        | 166 |
| Додаток Є Відомості про апробацію результатів дисертації .....                    | 169 |

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Рослинні олії є джерелом необхідних для людини біологічно цінних речовин, таких як поліненасичені жирні кислоти, жиророзчинні вітаміни, фітостероли та інші. Важливо включати в раціон різні рослинні олії, що відрізняються жирнокислотним складом і вмістом мікроелементів. Серед рослинних олій особливо цінною є гарбузова олія завдяки своїм біологічно активним речовинам, які є ефективними у лікуванні та профілактиці багатьох захворювань. Зокрема, вона містить природні антиоксиданти,  $\omega$ -6 та  $\omega$ -3 кислоти, представлені лінолевою та ліноленовою жирними кислотами відповідно, а також сквален, який є попередником утворення стеролів, стероїдних гормонів та вітаміну D.

Як відомо, у світовій практиці на сьогоднішній день існує два загальновідомі способи вилучення олії з олієвмісної сировини: пресування – механічний віджим олії за допомогою пресу та екстракція – вилучення олії з матеріалу розчинником.

Екстракційний спосіб є більш ефективним, він дозволяє вилучити майже всю олію з олійного матеріалу порівняно з пресовим методом. Однак, технологія екстракції передбачає використання органічних розчинників, що є небезпечним для життя та здоров'я людини, оскільки такі розчинники є вибухо- та пожежонебезпечними, а їх пари є токсичними, при вдиханні можуть викликати отруєння. Крім того, потрапляння їх парів у навколишнє середовище також є негативним явищем з точки зору екології, оскільки вони реагують із забруднюючими речовинами в повітрі та утворюють озонові і фотохімічні сполуки. Олія, яку одержують методом екстракції, повинна обов'язково піддаватись рафінації, що зумовлює втрату нею більшості її біологічно цінних сполук.

Водночас пресовий спосіб є більш екологічно чистим та пожежобезпечнішим, на відміну від екстракції, а також дозволяє зберегти

цінні природні компоненти в одержаних оліях (особливо холодним пресуванням). Однак, пресовий метод не дозволяє повністю вилучити олію з олійного матеріалу, в ньому завжди залишається значний відсоток вмісту олії. Саме тому актуальним є пошук технологій, які б дозволили інтенсифікувати процес пресового вилучення олії, але при цьому не призвели до погіршення її якості. Серед таких технологій перспективною є обробка олійного матеріалу перед пресуванням гідролітичними ферментами з протеолітичною, целюлолітичною, геміцелюлолітичною та пектолітичною активністю, яка здатна не лише сприяти збільшенню виходу олії, а й підвищувати її харчову цінність за рахунок збільшення переходу в олію біологічно активних речовин олійного насіння, зокрема, таких як токофероли та фітостероли.

Таким чином, дослідження, присвячені використанню попередньої ферментативної обробки олійного матеріалу для удосконалення технології пресового вилучення з нього олії, є актуальними та складають наукове завдання, яке вирішує дана дисертаційна робота.

**Зв'язок теми дисертації з державними програмами, науковими напрямами університету та кафедри.** Дисертаційна робота виконувалась в рамках наукової держбюджетної роботи кафедри технології жирів, хімічних технологій харчових добавок та косметичних засобів «Удосконалення технологій переробки олійної сировини та рослинних олій в концепції забезпечення сталого розвитку олійної та косметичної галузі» та науково-дослідної роботи «Використання ферментативних методів для сталого виробництва рослинної олії» (Державний реєстраційний номер: 0121U113864 (2021 р.), 0122U200376 (2022 р.) в рамках виконання спільного українсько-австрійського науково-дослідного проєкту (Накази МОН №1191 від 05.11. 2021 р. та №316 від 07.04. 2022 р.).

**Мета і завдання роботи.** Мета роботи – удосконалення технології пресування насіння гарбузів із використанням попередньої ферментативної обробки.

Для досягнення поставленої мети визначено наступні завдання:

- провести теоретичні дослідження та сформулювати робочу гіпотезу щодо можливості підвищення ефективності пресового вилучення олії з використанням попередньої ферментативної обробки олійного матеріалу;
- виявити ефективні ферментні препарати для обробки гарбузового насіння та дослідити вплив композиційного складу сумішей цих ферментів на підвищення виходу олії;
- дослідити вплив окремих ферментних препаратів та їх сумішей на клітинну структуру гарбузового насіння;
- шляхом експериментальних досліджень та математичного моделювання визначити раціональні технологічні параметри ферментативної обробки насіння гарбузів перед пресовим вилученням з нього олії;
- дослідити вплив попередньої ферментативної обробки на фізико-хімічні показники якості, склад та антиоксидантні властивості одержаної гарбузової олії;
- розробити апаратурно-технологічну схему та технологічну карту виробництва гарбузової олії пресовим методом із використанням попередньої ферментативної обробки м'ятки насіння гарбузів.

*Об'єкт дослідження* – процеси ферментативної обробки гарбузового насіння, вилучення гарбузової олії пресуванням.

*Предмет дослідження* – насіння гарбузів, технологічні параметри його ферментативної обробки, гарбузова олія.

**Методи дослідження.** Вологість гарбузового насіння визначали згідно ГОСТ-10856-96 методом висушування до постійної маси, олійність гарбузового насіння та макухи досліджували методом екстракції в апараті Соксклета NZ 45/40 з використанням петролейного ефіру протягом 8 годин.

Кислотне, пероксидне та анізидинове число гарбузової олії визначали згідно ДСТУ EN ISO 660:2019, ДСТУ 4570:2006 та ДСТУ EN ISO 6885:2019, відповідно. Жирнокислотний склад гарбузової олії досліджували методом газорідинної хроматографії метилових ефірів жирних кислот, склад фітостеролів олії – згідно ISO 6799:1991, ізомерний склад токоферолів олії визначали методом ВЕРХ з використанням колонки з оберненою фазою. Антиоксидантну активність гарбузової олії досліджували методом гасіння радикалів 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилу (DPPH). Кількість «зруйнованих» клітин у меззі гарбузового насіння визначали методом «миттєвого збовтування». Дослідження мікроструктури гарбузового насіння проводили методом світлової мікроскопії мікротомних зрізів насінини, забарвлених барвником Nuclear Fast Red, при збільшенні 100x за допомогою мікроскопу Leica DM750 та програмного забезпечення Leica Application Suiteversion 3.0.0. Визначення раціональних параметрів підготовки гарбузового насіння до пресового вилучення з нього олії здійснювали шляхом побудови математичної моделі цього процесу за ортогональним центрально-композиційним планом другого порядку трирівневого повного двохфакторного експерименту (трирівневий план Коно). Обробку отриманих даних проводили за допомогою програмних пакетів Microsoft Excel та Mathcad. Експериментальні дослідження проводилися в науково-дослідних лабораторіях кафедри технології жирів, хімічних технологій харчових добавок та косметичних засобів Національного університету харчових технологій (Київ, Україна) та у лабораторіях кафедри харчової науки і технології Віденський Інститут біотехнології Університету Природних ресурсів та природничих наук (BOKU), (Відень, Австрія).

#### **Наукова новизна одержаних результатів:**

##### **Вперше:**

— методом оптичної мікроскопії **встановлено**, що обробка мікротомних зрізів насіння гарбуза голонасінного сумішшю ферментних

препаратів із протеолітичною, целюлолітичною, геміцелюлолітичною та пектолітичною активністю призводить до практично повного гідролізу структурних елементів і руйнування клітинних оболонок та олеосом, що супроводжується коагуляцією вільної олії;

– **виявлено**, що застосування ферментативної обробки м'ятки насіння гарбуза звичайного сумішшю кислоти протеази та целюлази у співвідношенні 7:3, відповідно, при рН 5,2 дозволяє одержати максимальний кількісний вихід олії (60,3 %), що на 10,5 % вище порівняно із контролем;

– **встановлено**, що обробка насіння гарбуза звичайного ферментними препаратами із протеолітичною та геміцелюлолітичною активністю супроводжується підвищенням ефективності вилучення пресової олії: найвищий вплив на ефективність пресового вилучення олії з гарбузового насіння було виявлено під час його обробки ферментною сумішшю Флавозим+Пентопан 500 BG при рН 5,2, вихід пресової олії при цьому збільшився на 10,7 %, порівняно з контрольним зразком.

– **виявлено**, що обробка м'ятки насіння гарбуза голонасінного ферментною сумішшю із протеолітичною, целюлолітичною, геміцелюлолітичною та пектолітичною активністю перед пресуванням викликала збільшення виходу олії на 14,3 %;

– **з'ясовано**, що обробка м'ятки насіння гарбуза звичайного ферментними препаратами із протеолітичною та целюлолітичною активністю в кількості 0,6 % супроводжується підвищенням вмісту токоферолів у пресовій гарбузовій олії на 68,5 % та зростанням її антиоксидантної активності від 2 до 3,4 %;

**дістало подальшого розвитку:**

– експериментальне **обґрунтування** факторів, що визначають ефективність попередньої ферментативної обробки м'ятки олійного насіння з метою вилучення олії, а саме: кількість ферментної суміші, співвідношення ферментних препаратів з протеолітичною та целюлолітичною активністю,

кількість внесеної з розчином ферментної суміші води, рН розчину ферментної суміші.

**Практичне значення одержаних результатів** для олієжирової галузі полягає у розробленні технології обробки м'ятки гарбузового насіння сумішами ферментних препаратів із протеолітичною, целюлолітичною, геміцелюлолітичною та пектолітичною активністю для підвищення ефективності пресового вилучення олії.

**Особистий внесок здобувача.** Всі основні положення дисертації, які винесені на захист, одержані здобувачем самостійно, серед яких: аналіз науково-технічної літератури; планування та виконання експериментальних досліджень щодо впливу параметрів попередньої ферментативної обробки м'ятки насіння гарбузів на ефективність пресового вилучення олії та дослідження її основних властивостей; виконання експериментальних досліджень з визначення впливу ферментних препаратів та їх сумішей на клітинну структуру гарбузового насіння; проведення математично-статистичної обробки одержаних експериментальних результатів для оптимізації технологічного процесу; формулювання основних висновків дисертації. Планування досліджень впливу попередньої ферментативної обробки на клітинну структуру гарбузового насіння було виконано разом з доцентом кафедри харчової науки і технології Віденського інституту біотехнології Університету природних ресурсів та природничих наук (BOKU) Роландом Людвігом, в рамках спільного українсько-австрійського науково-дослідного проекту (Договір № M/51-2022, 24.05.2022, WTZ grant Nr. UA 05/2020). Постановка мети та завдань досліджень, обговорення та аналіз одержаних результатів були виконані разом з науковим керівником.

**Апробація результатів роботи.** Основні положення і результати дисертаційної роботи оприлюднено і обговорено на: 88 Міжнародній науковій конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті»

(м. Київ, 2022 р.), 87 Міжнародній науковій конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (м. Київ, 2021 р.), IX Міжнародній науково-технічній конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції» (м. Київ, 2020 р.), XIV науковій конференції молодих вчених «Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві» (м. Чернігів, 2020 р.), Міжнародній конференції «Якість і безпечність харчової продукції і сировини – проблеми сьогодення» (м. Львів, 2020 р.), VIII Міжнародній науково-технічній конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції» (м. Київ, 2019 р.), VII Міжнародній науково-технічній конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції» (м. Київ, 2018 р.), 84 Міжнародній науковій конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (м. Київ, 2018 р.).

**Публікації.** Основні результати дисертаційної роботи опубліковано у 18 працях, серед яких 2 статті – у наукових фахових виданнях України, 3 статті – у періодичних наукових виданнях, проіндексованих у базах даних Web of Science Core Collection та/або Scopus, 1 патент України на винахід, 4 патенти на корисну модель, 8 – у матеріалах конференцій.

**Структура та об'єм роботи.** Дисертаційна робота складається зі вступу, 5 розділів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Загальний обсяг дисертації становить 169 сторінок; з них 15 рисунків по тексту; 17 таблиць по тексту; списку використаних джерел зі 137 найменувань на 16 сторінках, 7 додатків на 15 сторінках.

# **1. СУЧАСНИЙ СТАН ДОСЛІДЖЕНЬ ЩОДО ВИКОРИСТАННЯ ФЕРМЕНТІВ У ТЕХНОЛОГІЯХ ПЕРЕРОБКИ ОЛІЙНОГО НАСІННЯ**

## **1.1. Хімічний склад та біологічна цінність плодів гарбузів та гарбузового насіння**

В Україні широкого застосування набули три ботанічні види гарбуза: гарбуз великоплідний, гарбуз твердокорий та гарбуз мускатний.

Введені в Державний реєстр сортів рослин України гарбузи переважно середньостиглі, універсального використання, потребують не дуже тривалого вегетаційного періоду. Але на півдні можна вирощувати гарбузи пізньостиглі, які мають високі споживні якості, придатні для переробки, зокрема для продуктів дитячого харчування [1].

Гарбуз є харчовим і лікувально-дієтичним продуктом. Очищені насінини маслянисті приємні на смак без запаху. Насіння має 2 оболонки – зовнішню дерев'янисту білого кольору з жовтуватим відтінком і внутрішню – плівкову, зеленувато-сірого кольору. Ядро насіння складається з двох жовтуватих сім'ядоль і зародка. Хімічний склад гарбуза великоплідного багатий і різноманітний.

**Хімічний склад частин рослини.** Вміст основних речовин в плодовій м'якоті на 100 г їстівної частини, %: вода - 90,3-92, білки 1,1, засвоювані вуглеводи: загальні - 6,5-32, моно- і дисахариди - 4,0, сахароза - 8-14, крохмаль - 0,2, пектин - 0,3, клітковина - 1,2, пуринові основи - 2,8 мг%, органічні кислоти в перерахунку на яблучну - 0,1, жир - 0,07, зола - 0,7, суха речовина - 9,7, ферменти, фітостероли. Калорійність - 29 ккал. Мінеральні речовини (всього 0,7%), мг%: натрій - 14-15, калій - 170, кальцій - 40, магній - 14, залізо - 0,8-1,7 (в 1 кг - 8-17 мг), сірка - 18, хлор - 19. З мікроелементів виявлено мідь, кобальт, кремній, фосфор (25), фосфорнокислі і кремнієві солі. Вітаміни, мг%: Р-каротин - 16-35, тіамін (В1) - 0,05, рибофлавін (В2) -

0,05-0,07, піридоксин (B6) -0,13, фолієва кислота (B9) - 14 мкг, ніацин (PP) - 0,50, пантотенова кислота (B5) - 0,40, аскорбінова кислота (C) - 10-20, філохінон (K) - 4, токоферол (E). Каротину в м'якоті гарбуза в 4 рази більше, ніж в дині, в 15 разів більше, ніж в кавуні.

У насінні гарбуза знаходяться, %: жири – 40-55, білкові речовини - 35, ефірні олії, амінокислоти - лейцин, тирозин, фітин, фітостерол кукурбитин - 0,5 (кукурбін), органічні кислоти - саліцілова, яблучна, цукри, фермент уреаза; вітаміни - каротин, каротиноїди, аскорбінова кислота і вітаміни групи В (B1, B2, PP) - до 0,2; гелміцидні речовини (алкалоїд зеленої оболонки насіння) - 0,1-0,3; в смолистих речовинах - оксистеротин, аскорбінова кислота, тіамін, каротиноїди і органічні кислоти.

У квітках є забарвлені речовини - флавоноїди (глюкорамнозид, ізорамнетин і ін.) і каротиноїди (зеаксантин, флавоксантин і криптоксантин). У листі міститься до 620 мг% аскорбінової кислоти [2].

**Хімічний склад олій.** Гарбузова олія відносяться до лінолевої групи олій, тобто в її складі переважають поліненасичені жирні кислоти з двома подвійними зв'язками (Таблиця 1.1).

Найбільшою біологічною активністю, як відомо, володіє лінолева кислота, яка в організмі людини і тварин перетворюється в арахідонову кислоту з чотирма подвійними зв'язками, що є попередником групи простагландинів.

Гарбузова олія, крім того, містить незначну кількість ліноленової кислоти - поліненасиченої кислоти з трьома подвійними зв'язками, яка в організмі людини перетворюється в ейкозопентаєнову - поліненасичену кислоту з п'ятьма подвійними зв'язками і докозагексаєнову - поліненасичену кислоту з шістьма подвійними зв'язками, які є попередниками лейкотрієнів - медіаторів запалення і реакції гіперчутливості.

Таблиця 1.1

## Жирнокислотний склад гарбузової олії

| Насичені<br>кислоти,<br>% | Моно-<br>ненасичені<br>кислоти, % | Полі-<br>ненасичені<br>кислоти, % | Олеїнова<br>кислота<br>(18:1) | Ліолева<br>кислота<br>(18:2) | Ліноленова<br>кислота<br>(18:3) |
|---------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| 3,8-7,2                   | 27,0-30,0                         | 58,0                              | 30,0                          | 57,0                         | 0,9                             |

У складі гарбузової олії 76 % від суми токоферолів становить  $\alpha$ -токоферол і 24% - інші його ізомери. Це обумовлює його досить хорошу стійкість до окиснення і високу біологічну активність.

Таблиця 1.2

## Вміст у гарбузовій олії токоферолів і каротинів

| Загальний вміст<br>токоферолів,<br>мг% | вміст $\alpha$ -<br>токоферолів, %<br>до суми<br>токоферолів | вміст $\beta + \gamma$ -<br>токоферолів, %<br>до суми<br>токоферолів | $\beta$ -каротин, мг%<br>(для гарбузової<br>олії - загальний<br>вміст<br>каротиноїдів) |
|----------------------------------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| 94                                     | 76                                                           | 24                                                                   | 13,88                                                                                  |

На особливу увагу заслуговують такі біологічно активні речовини, як стерини і сквален.

Сквален - ненасичений вуглеводень з групи ациклічних тритерпенів. Біологічне значення має циклізація сквалена в циклоартенол, з якого в подальшому утворюються стероїди: стерини, стероїдні гормони, вітамін D.

Стерини - тетрациклічні спирти з класу тритерпеноїдів. Основна біохімічна роль стеринів полягає в участі їх в утворенні клітинних мембран і перетворенні в різні біорегулятори (прогестини, кортикостероїди, вітаміни групи D), що регулюють процеси життєдіяльності організму людини і тварин.

Встановлено, що стероїдні гормони мають позитивний ефект не тільки при порушенні основних функцій організму, але і при лікуванні деяких форм

раку (передміхурової залози, молочної залози), а також для лікування запальних процесів, бронхіальної астми таревматоїдних артритів. При цьому необхідно зазначити, що дія зазначених біологічно активних речовин не викликає побічних негативних ефектів на відміну від тваринних стероїдів.

З огляду на корисні властивості гарбузової олії, необхідно відзначити, що вони не обмежуються наявністю абсолютних кількостей біологічно активних речовин. Цінність їх зростає в багато разів, завдяки тому, що присутні речовини утворюють біологічні комплекси, що діють за принципом синергізму [3].

**Лікувальні властивості.** На основі олії насіння гарбузів створено препарат «Тиквеол», який стимулює роботу печінки. Насіння гарбузів - лікарський нешкідливий глистогінний засіб. Як глистогінний засіб насіння гарбуза та препарати з нього не мають токсичної дії на організм людини, не викликають побічних явищ.

Гарбузи покращують травлення, тому їх включають у дієтичні раціони при ожирінні, зниженні функції жовчного міхура, набряках, викликаних серцево-судинними захворюваннями, туберкульозі, подагрі, хворобах нирок, запаленні кишечника [1].

Дослідження фармакологічних властивостей плода показало, що нативний екстракт гарбуза пригнічує вірулентний штам туберкульозної палички в дослідах *in vitro* на рідкому поживному середовищі в розведенні 1:10000. В дослідах *in vivo* у мишей з експериментальним туберкульозом спостерігалися: деяке віддалення термінів загибелі, зменшення втрати маси, переважання проліферативних процесів. Щодо інших грампозитивних і грамнегативних бактерій нативний екстракт гарбуза малоактивний. Пепозин («активний початок»), отриманий з плодів гарбуза екстракцією ацетоном, пригнічує ріст туберкульозної палички в розведенні 1:50000. На тваринах також проводились дослідження протипухлинної дії гарбуза на прищеплені їм клітини карциноми.

Встановлено, що сухе і свіже насіння гарбуза має також протизапальну, лактогінну, сечогінну і м'яку послаблюючу дію. Його призначають для стимуляції лактогенезу і залоз травного тракту, а також при деяких хворобах сечового міхура і сечогінних шляхів [2].

Олія виявляє антиоксидантну, регенеруючу, ранозагоювальну, протизапальну, зволожуючу, тонізуючу дію на шкіру. Її використовують для прискорення регенерації тканин в разі мікротравм, тріщин, опіків, вона сприяє захисту шкірного покриву від негативного впливу сонячних променів, запобігає появі сонячних опіків. Гарбузова олія сприяє зміцненню та стимуляції росту волосся та нігтів. Завдяки наявності вітаміну Е, лінолевої та ейкозапентаєнної кислот гарбузова олія сприяє зменшенню злущування шкіри. Вона поліпшує стан шкірного покриву, сприяє його очищенню, омолодженню надає шкірі здорового, свіжого вигляду [4].

Плоди гарбуза є нестійкими у зберіганні, тому одним із способів їх зберігання до перероблення є силосування. Для силосування потрібне спеціальне обладнання та камери для зберігання та визрівання силосу. Обладнання забезпечує миття плодів, видалення плодоніжок, насіння, подрібнення м'якоті, транспортування подрібненої м'якоті (мезги) у відсіки сховища та з нього — на виробництво. Бродіння триває кілька десятків днів залежно від якісного складу м'якоті гарбуза (вмісту сахаридів), ступеня подрібнення та температури середовища. Через 30...40 днів з моменту завантаження силосна маса є придатною для подальшого перероблення. Силос гарбуза має запах квашених овочів, приємний смак та оранжевий колір.

Силосування гарбуза є методом збільшення строків зберігання цієї сировини (до 200...250 діб). Силосовану м'якоть гарбуза використовують для екстракції з неї каротину соєвою олією [4] або органічним розчинником.

## **1.2. Методи вилучення олії із олійного насіння**

У світовій практиці виробництва рослинних олій використовують два методи вилучення олії з олійної сировини: механічний віджим олії – пресування, і розчинення олії в легколетких органічних розчинниках – екстракцію. Ці два основні методи використовуються в технології виробництва рослинних олій або самостійно, або в певному поєднанні одного з іншим, що визначається, як правило, видом та якістю олійної сировини. Вилучення олії проводиться за різними технологічними схемами з використанням різноманітних технологічних режимів.

Серед окремих процесів, що протікають при здійсненні тієї чи іншої технологічної операції, можна умовно виділити процеси основні і побічні, причому останні часто справляють істотний вплив на весь хід і кінцевий ефект операції.

Наприклад, при віджиманні олії основними процесами є механічні та супутні їм гідродинамічні (витікання олії), але вони супроводжуються побічним процесом виділення тепла внаслідок перетворення механічної енергії, що йде на подолання сил тертя, в теплову енергію. Побічне тепло підсилює протікання таких хімічних процесів, як денатурація білкових речовин матеріалу, окиснення олії і випаровування вологи.

У технологічних схемах переробки олійного насіння, що передбачають відокремлення його оболонки від ядра, розрізняють операції підготовчі, основні, допоміжні і додаткові. До підготовчих операцій відносять очищення насіння від домішок, його сушіння і звільнення ядра від оболонки. Основні операції включають подрібнення ядра, волого-теплову обробку подрібненого матеріалу (м'ятки) і власне вилучення олії шляхом віджиму або екстракції розчинником.

Метою подрібнення ядра та волого-теплової обробки подрібненого матеріалу є зміна структури матеріалу, локалізації в ньому олії і зменшення зв'язаності олії з нежировою частиною.

Вилученню олії з ядра насіння безпосередньо передують операції волого-теплової обробки подрібненого ядра (або насіння, якщо операції обрешування і відділення оболонки від ядра відсутні).

Незважаючи на великі успіхи в техніці і технології виробництва рослинних олій із застосуванням досить сучасних і високопродуктивних шнекових пресів безперервної дії, принциповий недолік процесу одержання олії шляхом механічного віджиму - висока залишкова олійність макухи і великі втрати олії з нею – не міг бути усунутий [5].

Прагнення до максимального знежирення олійного насіння призвело до впровадження в 1856 р. нового способу виробництва рослинної олії - екстракційного. При цьому способі для отримання олії застосовують дію органічних розчинників, які добре розчиняють олію. При обробці подрібненого насіння розчинником олія розчиняється, утворений розчин олії в розчиннику відокремлюють від знежирюємого насіння, а потім, нагріваючи, звільняють практично нелетку олію від легковипаровуваного леткого розчинника [6]. На Екстракційний спосіб є єдиним, що дозволяє вилучати олію до залишкового вмісту її в екстрагуємому матеріалі 0,5-1,5% [5]. Екстракція дозволяє вилучати олію з низькоолійних матеріалів, що неможливо при використанні найдосконаліших пресів.

Для більшості олійного насіння застосовують послідовне вилучення олії – спочатку пресовим способом, вилучають приблизно 3/4 всієї олії, а потім екстракційним, за допомогою якого вилучають залишок олії. Олійну сировину, що містить порівняно мало олії, знежирюють одноразово екстракційним способом. Останній спосіб отримав назву «пряма екстракція».

Під час дистиляції місцели спостерігається утворення первинних продуктів окиснення (пероксидів і гідропероксидів). Однак в подальшому

відбувається їх розпад з одночасним накопиченням термостабільних вторинних продуктів окиснення: оксикислот, карбонільних сполук, кополімерів і т. д. У зв'язку з цим в екстракційній олії при невисокому пероксидному числі вміст продуктів окиснення, нерозчинних в петролейному ефірі, вищий, ніж в пресовій [5]. Присутність продуктів перетворення знижує якість олії і ускладнює ведення технологічних процесів при подальшій переробці олії. Тому домішки і супутні групи ліпідів з місцелі необхідно видаляти до дистиляції. Видалення структурних ліпідів – каротиноїдів, стеролів, токоферолів, фосфо- і гліколіпідів, вільних жирних кислот вимагає застосування фізико-хімічних і хімічних методів - обробки розчиненої в розчиннику олії лугом - рафінації в місцелі [6].

У сучасній практиці виробництва рослинних олій використовуються наступні технологічні схеми:

1. Схеми, що кінцевою стадією в яких є пресування:

- одноразове пресування на шнекових пресах;
- дворазове пресування на шнекових пресах з попереднім і остаточним віджимом олії;
- триразове пресування з двома попередніми і одним остаточним ступенями віджиму олії.

2. Схеми, що завершуються екстракцією:

- пряма екстракція без попереднього віджиму олії;
- екстракція з одноразовим попередніми віджимом олії на шнекових пресах «форпресування - екстракція»;
- екстракція з дворазовим попереднім віджимом олії.

Екстракційне виробництво вимагає строгого дотримання техніки безпеки, пожежо- і вибухобезпеки. Основними причинами виникнення пожеж і вибухів в екстракційних цехах і на шротових складах, а також отруєнь робочими парами розчинника є загазованість виробничих, приміщень парами розчинника - бензину, нефрасу, газоподібними

продуктами, які утворюються при самозігріванні шроту, а також запиленість приміщень складів шротовим пилом.

### **1.3. Перспективні напрямки вилучення олії з олійного насіння**

#### **1.3.1. Вплив параметрів підготовки гарбузового насіння до пресового вилучення олії за традиційною технологією на ефективність процесу та на склад і якість одержаної олії**

Насіння гарбузів має особливі технологічні властивості, зумовлені анатомічною та морфологічною будовою. Для вилучення олії із такого насіння було запропоновано низку способів. Так, зокрема, запатентовано спосіб отримання гарбузової олії пресуванням з попередньою вологотепловою обробкою подрібненого насіння при температурі 80-90 °C і подальшим фільтруванням олії [7]. Недоліком цього методу є те, що він не дозволяє отримувати олію з вилученням всіх жирних кислот (кількість видобутих жирних кислот 6).

Запропоновано спосіб отримання екстракту з насіння гарбуза, що включає екстракцію насіння гарбуза рослинною олією в співвідношенні 1:2 на водяній бані протягом 1,5 години з подальшим центрифугуванням і відділенням цільового продукту [8]. Недолік цього методу полягає в тому, що він не дозволяє отримувати власне олію насіння гарбуза.

Відомий також спосіб отримання олії з насіння гарбуза, що включає наступні етапи: стерилізація насіння гарбуза гарячим повітрям при температурі 100-120 °C протягом 2,5-3,5 хвилин з подальшим зниженням температури рослинної сировини до температури навколишнього середовища і механічний віджим насіння при 60 °C [9].

Запропоновано також спосіб отримання олії з насіння гарбуза, що передбачає сортування і сушіння насіння спочатку при 20-22 °С, а потім при 60-80 °С і наступне пресування [10].

Відомий спосіб отримання олії з насіння гарбуза, що полягає в сортуванні насіння, його сушінні при 50-60 °С протягом 15-20 хвилин і пресуванні при 70 °С з подальшою фільтрацією при 40 °С [11].

У способі отримання олії з насіння гарбуза насіння подрібнювали до борошна грубого помелу, обробляли при температурі не вище 60 °С і пресували [12].

Запропоновано спосіб отримання олії з насіння гарбуза, що передбачає сортування сировини, подрібнення, обробку насіння паром протягом 2-5 хвилин і його холодне пресування [13].

Розроблено спосіб отримання олії з насіння гарбуза, який зводиться до наступних етапів: знезараження насіння, очищення від лушпиння і домішок, пропарювання насіння і його пресування спочатку при 70-75 °С, потім при 20-25 °С і фільтруванням олії [14].

Недоліки цих методів [9-14] полягають в тому, що термічна обробка насіння на початковому етапі процесу може сприяти деструкції частини цінних речовин, що входять до складу олії гарбуза.

Для вилучення гарбузової олії використано також спосіб суперкритичної екстракції. Встановлено також, що подрібнення висушеного при 30-35 °С протягом 1,0-1,5 годин насіння гарбуза сорту *Cucurbita maxima* *Dich* до розміру часток 1,0-2,0 мм призводить до збільшення виходу олії при проведенні екстракції протягом 50 хвилин, при тиску 300 атмосфер, температурі 40 °С і швидкості потоку диоксида вуглецю 40 г/хв. Одночасно збільшується екстрагування інших компонентів, при більш тривалій екстракції відбувається зменшення виходу цінних компонентів, зокрема лінолевої кислоти та інших компонентів. Подрібнення сировини до розміру часток менше 1,0 мм (0,7 мм) призвело до зниження виходу олії з 22,5 % до

19,7 %, одночасно зменшувалась кількість лінолевої кислоти з 28,1 % до 21,6 % [15]. При більшій тривалості екстракції (більше 50 хв.), або більш високому тиску, понад 300 атмосфер, або більш високій температурі (понад 40 °C) або при більш високій швидкості потоку діоксиду вуглецю (понад 40 г/хв), можуть відбуватися небажані процеси, що призводить до зменшення виходу лінолевої кислоти і низки інших компонентів.

В способі виробництва олії з насіння баштанних культур [16], що включає очищення, сортування, сушіння і пресування насіння, висушування насіння здійснюють в установці для теплової обробки олійного насіння шнекового типу спочатку за температури 100-110°C протягом 2-3 хв, а далі за температури не вище 60 °C протягом 20-23 хв до вологості 3-5%, потім насіння подрібнюють, а пресування насіння гарбуза виконують спочатку за температури не вище 50 °C, а перед кінцем циклу пресування за температури 80-100 °C.

Олія насіння баштанних культур, отримана за запропонованим способом згідно даного винаходу, має підвищений вміст токоферолів та інших біологічно активних речовин і вітамінів. Цю олію можна зберігати до 2 років, завдяки тому, що на початку сушіння проводять стерилізацію насіння (тепловий удар) за температури 100-110 °C протягом 2-3 хв для знищення мікрофлори на поверхні насіння, подрібнюють після сушки, що запобігає підгоранню насіння, а в кінці пресування за 8-10 с проводять пастеризацію олії при температурі 80-100 °C для знищення мікрофлори в олії.

Вилучення біологічно активних речовин при виробництві олії з насіння баштанних культур дає можливість широкого його використання як в медицині, так і в косметичній промисловості та збільшити термін її зберігання до 2-х років, по кільки насіння баштанних культур при сушінні стерилізують в цілому вигляді, а олію при пресуванні пастеризують [16].

Дослідники Давидова В.Р. та Вихованець Т.А. [3] виявили, що важливим фактором при виробництві олії є регулювання вмісту інгібіторів окиснення. Присутність їх в достатніх кількостях важлива вже на першій стадії процесу, коли м'ятка піддається дії тепла і кисню повітря, і захищати від окиснення не тільки гліцериди, але і жиророзчинні вітаміни, зокрема каротиноїди, і інші корисні речовини, які раніше гліцеридів вступають у взаємодію з киснем. При переробці олійного насіння великий вплив на вихід олії і вміст у ній біологічно активних речовин має режим його сушіння. Збільшення інтенсивності сушіння призводить до підвищення вмісту біологічно активних речовин олії, а також до руйнування комплексу зв'язаних ліпідів. Під час висушування насіння гарбузів, вологість якого становить 44-52 %, спільна дія температури, вологості і ферментів насіння викликає глибоке псування олії - гідроліз, який протікає дуже швидко. Внаслідок цього збільшується кількість вільних жирних кислот, які мають вищу швидкість окиснення в порівнянні з тригліцеридами [3].

Згідно запропонованої технології [3], висушування насіння здійснювали в 2 етапи. На першому етапі вологість насіння знижували до 20-21%. На другому етапі висушування насіння здійснювали в жорсткому режимі. Подальшу волого-теплову обробку подрібненого насіння проводили в дві стадії. Перша стадія - це короткочасний тепловий удар, внаслідок якого відбувається остаточне руйнування ферментів насіння, що запобігає гідролітичному розщепленню гліцеридів. Водяна пара, яка утворюється внаслідок випаровування вологи, створює досить потужний захист від контакту кисню повітря з олієвмісними частинками. Друга стадія - тривале низькотемпературне прогрівання. В результаті даної технології вихід олії склав: при температурі сушіння насіння 60 °С – 53 %; при температурі 80 °С – 56 %, що на 17–19 % більше в порівнянні з відомими технологіями. Вивчення фізико-хімічних властивостей олії, отриманої за розробленої технології, показало значне збільшення вмісту лінолевої кислоти на 16–26%,

токоферолів – в 1,6–1,9 рази, каротиноїдів – в 2,4 рази, стеролів – на 34,2% в порівнянні з відомими технологіями [3].

### **1.3.2. Використання нових розчинників для сольвентного екстрагування олії із олійної сировини**

Традиційна екстракція олії розчинником пов'язана з використанням органічних розчинників, таких як гексан або петролейний ефір, та відома як один з найбільш ефективних та економічно обґрунтованих способів вилучення олії з насіння олійних та овочевих культур [17].

Останнім часом зростає увага до розвитку різних методів екстракції, наприклад, екстракція у надкритичному рідкому середовищі, мікрохвильова екстракція, а також екстракції під тиском розчинника, які можуть застосовуватися для вилучення з рослинної сировини різних природних компонентів, таких як ліпіди, стероїди, терпеноїди, феноли та ефірні олії [17].

Незважаючи на те, що вилучення олії з насіння за допомогою екстракції органічним розчинником є одним із найбільш поширених способів одержання олій, існують істотні недоліки такого методу видобутку олії, які змушують дослідників шукати альтернативні способи вилучення олії. Зокрема, при потраплянні гексану у навколишнє середовище він реагує із забруднюючими речовинами, утворюючи озонові та фотохімічні речовини. Крім того, кілька досліджень показали, що гексан впливає на нервову систему при вдиханні людиною через розчинність у нейронних ліпідах. Токсичні отруєння спостерігалися у поросят, яких годували шротом, що містив залишковий гексан [18,19].

Серед можливих альтернатив використанню гексану в олієжировій галузі заслуговують на увагу так звані «зелені розчинники» – терпени, а також екстрагування іонними рідинами та водна ферментативна екстракція олії [20].

У ході досліджень було виявлено, що терпени мають характеристики н-гексану і здатність до розчинення ліпофільних речовин. Більше того, терпени не тільки безпечніші через більш високу температуру спалаху, але і мають дещо більшу дисоціаційну силу порівняно з н-гексаном через незначні відмінності діелектричної сталої [21,22]. Зокрема, автори роботи [23] вивчали якість олії, вилученої з рисових висівок гексаном та d-лимоненом. Біорозчинник d-лимонен за якістю еквівалентний якості гексану. Аналогічні дослідження [24] були проведені для видобутку олії з насіння ріпаку. Для екстракції ріпакової олії в якості розчинників використовували гексан, етанол, бутанол, ізопропанол, d-лимонен, p-цимен та  $\alpha$ -пінен. Серед розчинників, p-цимен забезпечив найбільший вихід екстрагенту. Основними компонентами одержаної місцели були вільні жирні кислоти, дигліцериди, моногліцериди та тригліцериди відповідно. В місцелі, екстрагованій p-цименом, був низький вміст тригліцеридів, але вміст вільних жирних кислот, дигліцеридів та моногліцеридів був високим. Отриманий результат можна пояснити через більшу полярність терпенів, ніж гексану [23-46]. Проте масштаби застосування терпенів для видобутку олії обмежені через високі теплоту випаровування, температуру кипіння, густину та в'язкість.

Цікавими для олійної галузі є також іонні рідини – неводні сольові розчини, які містять як аніони, так і катіони, що можуть підтримуватися в рідкому стані при помірних температурах (0-140 °C). Іонні рідини є екологічними розчинниками, оскільки в них немає помітного тиску пари, і як результат, немає забруднення. Крім того, вони є негорючими і залишаються в рідкому стані за широкого діапазону температур [47-49].

Іонні рідини використовувались як розчинник для вилучення, каталізу та синтезу різних сполук. Вони також можуть бути використані як співрозчинник для ферментів, як середовище для декількох реакцій, для розділення двофазної системи, тощо [50]. Однак, дослідження щодо застосування іонних рідин для видобутку олії зустрічаються досить рідко і

потребують обґрунтування технічної та економічної доцільності їх використання в даному напрямку. Автори роботи [51] вивчали видобуток ефірних олій із фруктів *Schisandra chinensis Baill* за допомогою іонних рідин і виявили, що використання іонної рідини в поєднанні з мікрохвильовою дією скорочує витрати часу, енергії та є екологічно чистим процесом [51]. Хоча цей метод є перспективним, але технологія видобутку олії іонними рідинами потребує додаткових досліджень [52,53].

### **1.3.3. Використання ферментів для руйнування цілісності клітин олійного насіння**

Важливий процес видобутку олії – руйнування клітинних стінок рослин та олеосом. Олеосоми, в яких локалізуються ліпіди, зовні захищені стабільною пектиновою і лігноцелюлозною матрицею клітинних стінок [54-58]. Дослідження [54,59] показали, що розмір пор в клітинних стінках в діапазоні від 20 до 80 нм дозволяє проходження компонентів, що мають молекулярну масу нижче, ніж 9 кДа. Щоб вилучити більші клітинні структури (наприклад, велика частина олеосом з діаметром 0,5-2 мкм), клітини повинні бути зруйновані, що найчастіше досягається за рахунок механічних процесів. Було визначено, що екстракція соєвої олії була можлива тільки після подрібнення насіння до частинок менших 55 мкм (менше, ніж довжина однієї клітини) [54,60]. Такий високий ступінь клітинного подрібнення важко досягти за допомогою фізичної обробки. Участь гідролітичних ферментів може допомогти в цьому процесі. Ефективне вивільнення ліпідної фракції може бути досягнуто також за рахунок руйнування мембранних білків олеосом. Ці інтегральні білки покривають поверхню олеосом із густиною 3,2 мг/м<sup>2</sup> і захищають їх від коалесценції навіть при інтенсивному струшуванні (наприклад, центрифугуванням) [54,59,60].

Виділення ліпідів з сировини значно залежить від температури, яка впливає на денатурацію білків і в'язкість олійної фази. Підвищення температури зазвичай полегшує вивільнення олії з клітин. Попередні дослідження показали, що оптимальна температура для соєвого насіння була нижче 50 °C, в той час як у випадку з арахісом, близька до 60-64 °C [54,59]. Крім того, зміна рН може впливати як на дестабілізацію мембранних компонентів (агрегацію олеосом в ізоелектричній точці) і зміну електрохімічного стану інших компонентів клітини. Однак експериментальні дані по вибору рН, яке сприяє вилученню олії, неоднозначні. Наприклад, для насіння кукурудзи раціональне значення рН 6 (ізоелектрична точка олеосом) або 9. В останньому випадку, руйнування олеосом мало характер хімічного гідролізу, який може зруйнувати незамінні амінокислоти і, таким чином, зменшити біологічну цінність знежирених рослинних клітин [54,59]. Дію ферментативних чи фізико-хімічних процесів в ході ферментативної обробки важко передбачити, це вимагає емпіричної перевірки щодо конкретної сировини (наприклад, насіння) і типів застосовуваних препаратів. Проведені дослідження [54,59] показали, що застосування 3% (за масою) комерційних препаратів пектинази, целюлази, геміцелюлази, арабінази,  $\beta$ -глюканази і ксиланази руйнує приблизно 55-60% соєвих олеосом.

Ферментативне руйнування клітин і олеосом може бути використано в якості важливого кроку при водній екстракції або в якості стадії попередньої обробки з наступним пресуванням або у поєднанні з іншими методами вилучення олії.

#### **1.3.4. Технологія водно-ферментативного екстрагування олії**

Одним із перспективних методів вилучення олії з олійного насіння є водна ферментативна екстракція.

Водна екстракція передбачає вилучення олії з насіння олійних культур шляхом її емульгування у полярних розчинниках. [24]. Одним з факторів, який сприяє водній екстракції гідрофобних сполук є гідратація, що збільшує відмінності між гідрофобними (ван-дер-ваальсові сили) і гідрофільними (водень і іонним зв'язком) взаємодіями між компонентами клітин. Цей процес збільшує внутрішньо клітинний тиск, що може привести до руйнування клітинних стінок і мембран, що полегшує вилучення олії [54].

Нещодавні дослідження розкрили значний потенціал водної ферментативної екстракції [25]. До того ж, цей процес є екологічнішим та безпечнішим для здоров'я, ніж екстракція органічним розчинником, одночасне видобування олії та білка може бути здійснено без погіршення їх якості. Крім того, цей спосіб є економічно вигідним, оскільки зменшується використання дороговартісних органічних розчинників, а також він є ефективним для вилучення антихарчових речовин і токсинів. Ці переваги роблять водну ферментативну екстракцію перспективною «зеленою» технологією не тільки для переробки олійних культур, але і для вилучення окремих цінних сполук [26-28].

Проте застосуванню цієї технології все ще заважають такі фактори, як висока вартість виробництва ферментів, тривалий час інкубації та необхідність у процесі деемульгування. Витрати на переробку ферментів можна звести до мінімуму, адаптувавши відповідні технології до звичайного процесу, наприклад, застосовуючи хроматографію зі спорідненим розширеним шаром, мембранну технологію очищення білка, перфузійну хроматографію [61-65].

Ще одна стратегія зниження собівартості - це іммобілізація ферментів, завдяки якій ферментні препарати можуть використовуватись багатократно. Застосування екстрагованої кремової емульсії, яка має ферментну активність могло б стати підходом до зниження витрат. У роботі [66] встановлено, що Протекс 6L мав 100 % активність у фракціях олійної та

знежиреної емульсії після водно-ферментативної екстракції і розділення фаз. Аналогічно, після вилучення олії з сої у водних фазах спостерігалось близько 84,7 % активності [67].

Процес водної ферментативної екстракції дозволяє економити енергію, зменшуючи потребу в розчиннику, у моніторингу технологічного процесу (у випадку екстракції розчинником слід контролювати вміст летких сполук), а також дає можливість одночасно вилучати з насіння олію та білок. Усі ці переваги водної ферментативної екстракції можуть компенсувати проблеми, які виникнуть в процесі її впровадження [68-70].

Ефективність водної ферментативної екстракції олії з олійних культур залежить від кількох факторів. Серед таких факторів можна виділити наступні.

***Підбір ферментних препаратів для видобутку олії.*** Застосування ферментів самостійно або в суміші може бути визначене на основі структури насіння, складу ферментів, типу ферментів, технологічних параметрів обробки. Так, зокрема, термооброблене соєве борошно окремо обробляли целюлазою, пектиназою, геміцелюлазою та протеазою (Алкалаза 2,4L від *Bacillus licheniformis*). Серед них, протеаза (Алкалаза 2,4L) спричиняла більший вихід олії, ніж решта ферментів [29]. Аналогічно, в екструдованих пластівцях сої обробка протеазою призводила до вищого виходу олії (96,0 %), ніж обробка фосфоліпазою (73,4 %) [30]. Крім того, коли екструдовані соєві пластівці обробляли лише целюлазою та сумішшю целюлази і протеази, значного збільшення виходу соєвої олії (68 %) не спостерігалось. Однак, коли той же олійний матеріал був оброблений протеазою, це призвело до отримання 88 % виходу соєвої олії [31]. Це чітко підтверджує, що гідроліз білків (який складає переважну частину насіння сої) протеазою сприяє підвищенню виходу олії.

Аналогічно, ріпак, у клітинній стінці якого переважає пектин, оброблявся пектиназою, що призвело до збільшення виходу олії на 85,9 %

[32]. Проте деякі інші результати показали, що застосування ферментних сумішей мало вищу ефективність, ніж окремі ферменти, імовірно, завдяки синергізму [33]. Наприклад, суміш ферментів, таких як полігалактураназа,  $\alpha$ -амілаза та протеаза, забезпечувала більш високий вихід кокосової олії (80 %) [34]. Навпаки, обробка насіння сої комбінацією Алкалази 2,4L та Віскозиму не призводила до значного збільшення виходу олії [35].

Рациональне використання ферментів є необхідним кроком для досягнення більш високих виходів олії та вилучення суміжних продуктів.

#### ***Подрібнення та розмір частинок олійного матеріалу.***

Подрібнення, як відомо, руйнує клітинні стінки олійного матеріалу і, відповідно, забезпечує вивільнення олії [36]. Як правило, менший розмір частинок сприяє більшому виходу олії, однак висока ступінь подрібнення може призвести до втрати мікропористості, що в свою чергу, зменшує вихід олії. Водночас, збільшення розмірів частинок олійного матеріалу при ферментативній обробці може спричинити відсутність доступу до нього ферментів, що також, в свою чергу, може призвести до зниження виходу олії [33]. Автори роботи [30] повідомили про збільшення виходу олії на 31%, коли розмір частинок олійного матеріалу зменшився з 400 до 100 мкм. Саме тому доцільно зменшувати розмір частинок олійного матеріалу (насіння/плодів) подрібненням або плющенням, щоб збільшити доступ до них для ферментів.

Як правило, олійний матеріал з високим вмістом олії може подрібнюватися у вологому стані, тоді як для низькоолійного насіння, такого як соя, необхідне попереднє сушіння. Наприклад, подрібнення кокосового горіха (високий вміст олії) у вологому стані не тільки призводить до більш високого виходу олії, але й полегшує стадію сушіння [37].

***pH.*** Ефективність вилучення олії за допомогою ферментів суттєво залежить від pH середовища. Максимальна ефективність вилучення може бути досягнута при оптимальному значенні pH середовища, оскільки кожен

фермент має своє конкретне оптимальне значення рН [35]. Проте, екстрагування необхідно проводити за значення рН, що відрізняється від ізоелектричної точки білків. Тому що саме в цій точці білок є нерозчинним, що може перешкоджати вилученню олії. Зокрема, через низьку розчинність білка в ізоелектричній точці спостерігався низький вихід олії з насіння сої, ріпаку, арахісу та соняшнику [38,39].

**Температура.** Температура є ще одним важливим фактором оптимізації для активності ферментів. Як правило, ферменти активні при 45 °С або нижче, а підвищення температури призводить до денатурації білка, і, як результат, зменшується вихід олії [39]. Наприклад, оптимальна температура для вилучення оливкової олії становить 30 °С, а для лляної - 34 °С, відповідно. У дослідженні, проведеному на насінні арахісу, максимальний вихід олії був одержаний при 40 °С, однак у результаті зниження температури до 37 °С вихід олії зменшився. Тому важливо оптимізувати температурний діапазон відповідно до якості та виду насіння, яке обробляється [40].

**Співвідношення концентрацій фермент/субстрат.** Як правило, підвищення концентрації ферменту призводить до прискорення ферментативних реакцій [41]. Проте, збільшення концентрації ферментів призводить до більшого руйнування складових клітинних стінок та посилення вилучення олії лише до моменту насичення ділянок субстрату. Крім того, підвищення концентрації ферментного препарату може призвести до виникнення сторонніх запахів, гіркоти та карамелізації цукрів, що може перешкоджати процесу вилучення олії [39,42]. Вартість ферменту та якість олії також є факторами, які слід враховувати перед визначенням концентрації ферменту [43].

**Співвідношення олійний матеріал : вода (гідромодуль).** Ферментативна активність потребує вмісту води або вологи для кількох функцій, таких як дифузія, рухливість ферментів та гідролітичні реакції [44].

Проведення ферментативної обробки при низькому вмісті води призводить до утворення густої суспензії [32]. В результаті дія ферменту може пригнічуватися. З іншого боку, при високому вмісті води зменшується концентрація ферменту та субстрату [45].

Оптимальне співвідношення субстрат : вода, встановлене дослідниками Сінейро та ін. [72] для насіння соняшнику, становило 7,5–8 г води на грам насіння, тоді як Хагенмайер [73] працював при співвідношенні 1:10, відповідно. Для вилучення арахісової олії співвідношення олійний матеріал : вода, рекомендовані в літературі, варіюються від 1:5 до 1:12. Автори роботи [74] повідомили про оптимальне співвідношення для вилучення ріпакової олії, яке змінюється від 1:2,5 до 1:3,5. Насправді, ці два різні способи взаємопротилежні: для отримання менш стійких емульсій необхідно на етапі вилучення мати високе співвідношення субстрат : вода. Однак для отримання найвищих показників виходу зазвичай потрібно використовувати велику кількість води. Відмінності між цими співвідношеннями, безумовно, залежать від складу клітинної стінки насіння, але також і від різних засобів екстрагування та перемішування [72-74].

**Швидкість перемішування.** Перемішування допомагає підтримувати високий градієнт концентрацій речовин, що екстрагуються, та інтенсифікувати процеси масообміну [46]. Видобуток олії з насіння *Moringa oleifera* проводили зі швидкістю перемішування 50, 80 та 120 об/хв. При 120 об/хв краплі олії (більші за розміром) накопичувались на поверхні, що мало перевагою легку сепарацію [44]. Однак, процес перемішування передбачає додаткові енергетичні витрати, та може сприяти утворенню стійких емульсій, які важко розділити [45].

**Інактивація ендогенних/екзогенних ферментів.** Для збереження якості олії перед водною екстракцією необхідно інактивувати низку ендогенних ферментів, таких, наприклад, як мірозіназа, ліпаза тощо. Автори роботи [75] досліджували кінетику термічної інактивації мірозінази

гірчичного насіння в неушкоджених тканинах: ферментативна активність не була виявлена через 30 хв при 72,5 °С або через 10 хв при 75 °С. Автори показали, що тривалість обробки зменшилась, коли насіння було подрібнене. Відварювання неушкодженого насіння ріпаку протягом 5 хв може ефективно інактивувати мірозіназу, 11,28 % глюкозинолатів руйнуються внаслідок нагрівання [76]. Інактивація нагріванням у водному середовищі простіша, ніж у цілому насінні. Автори також показали, що інактивація ріпакової ліпази більш ефективна при мікрохвильовій обробці, ніж при паровому нагріванні. І нарешті, вміст вільних жирних кислот збільшується з часом обробки, але в обох випадках він однаковий (мікрохвильова обробка та парове нагрівання) [75,76].

Для різних олійних культур, насіння яких використовували для водної екстракції, були запропоновані різні комбінації ферментів та різні технологічні параметри процесу.

Дослідження водної ферментної екстракції було здійснене на гарбузовому насінні [54]. Основна мета даного дослідження полягала в оптимізації температури, рН та тривалості ферментативної обробки насіння гарбузів, використовуючи суміш комерційних ферментних препаратів з метою максимального вилучення гарбузової олії. На першому етапі дослідження еталонний зразок олії був отриманий пресуванням насіння гарбуза з вмістом вологи 9 % при температурі 50 °С (холодне пресування). На другому етапі дослідження свіже насіння гарбуза було оброблене з використанням суміші ферментів. Був вказаний бажаний склад суміші (поодинокі препарати або їх суміш) і мінімальна кількість суміші (що містить рівні маси кожного препарату), одержаний вихід олії порівнювали з виходом під час холодного пресування. Результати засвідчили, що мінімальна масова частка всіх трьох ферментів повинна складати 2 %. Дисперсійний аналіз показав, що рН при ферментації має суттєвий і вирішальний вплив на вихід олії (понад 73 % від загальної варіації, в тому числі лінійних і квадратичних

ефектів). Високий вихід олії, що дорівнює 72,6 %, був отриманий при оптимізованих умовах: температура = 54 °С, рН = 4,7 і тривалість = 15,4 год [54].

Аналогічним чином, за допомогою ферментної суміші (целюлаза, пектиназа і протеїназа) та мікрохвильової обробки, досягається приблизно двократне збільшення виходу гарбузової олії, вилученої гексаном. Оптимальні умови для попередньої ферментативної обробки насіння були: 1,4 % (за масою) ферментів (в рівних масових частках), і температура 44 °С [54,77].

Драгинею М. Періцин та ін. [78] були проведені дослідження обробки безлушпинного гарбузового насіння *Cucurbita pepo*, cv. *Olinka* гідролітичними ферментами з метою поліпшення вилучення з нього білків. На основі хімічного складу гарбузового насіння було підібрано два ферментні препарати - целюлаза та пектиназа. Гідролітичну ферментативну обробку проводили в фосфатному буфері 0,05 моль/л при рН 5 за температури 45 °С і перемішуванні (150 об/хв), ферментний препарат дозували в різних концентраціях. Автори роботи виявили, що ферментативний гідроліз спричинив руйнування целюлози та пектину в клітинній стінці та вивільняв білки з клітин гарбузового насіння, ферментативне руйнування полісахаридів супроводжувалося утворенням продуктів розпаду, таких як редукуючі цукри. Було досліджено одночасний вплив значень двох незалежних змінних: концентрації ферментів та тривалості реакції. Були досягнуті подібні значення концентрації редукуючих цукрів (100 та 108 мг/ 1 г сухого насіння) шляхом використання окремо як пектинази, так і целюлази при концентрації цих ферментів 2 %, але при різній тривалості реакцій. Тривалість реакції руйнування клітинної стінки при застосуванні пектинази була удвічі коротшою, ніж при застосуванні целюлази. Об'єднана дія досліджуваних ферментів (1 % пектинази та 1 % целюлази) дала вихід редукуючих цукрів 142 мг на 1 г

сухого насіння гарбуза в тих самих реакційних умовах ( $\text{pH} = 5,0$ , температура:  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ , тривалість реакції: 300 хв). Початкова концентрація редукуючих цукрів в 1 г сухого насіння гарбуза становила 2,6 мг, а після ферментативної обробки ця концентрація зросла в 50-60 разів. Як правило, найвищі результати були отримані при застосуванні ензимної суміші, яка містить активності пектинази та целюлази, що демонструє синергійний ефект, як повідомлялося в попередніх дослідженнях вилучення олії із застосуванням попередньої ферментативної обробки [78].

За тих же умов реакції гідролізу клітинної стінки також вимірювали концентрацію солюбілізованих білків [78]. Ферментативна обробка гарбузового насіння при водному екстрагуванні значно підвищила ефективність вилучення з нього білка. Кінцевий білковий продукт можна вважати придатним для харчування. Результати дослідження показали незначну різницю між концентраціями білка, одержаними за допомогою ферментативної обробки пектиназою та целюлазою. Більш високі значення концентрації солюбілізованих білків були досягнуті під час ферментативного гідролізу з целюлазою (понад 91 мг/ 1 г сухого насіння), ніж у випадку пектиназної активності (50 мг/ 1 г сухого насіння). Обробка ферментною сумішшю, що містила 1 % пектинази та 1% активності целюлази, не впливала на підвищення концентрації білка порівняно з окремими ферментативними діями [78].

Автори роботи [79] застосували попередню ферментативну обробку для вилучення олії з насіння тигрового горіха за допомогою пресування та водної екстракції. У випадку водної ферментативної екстракції подрібнені горіхи оброблялись сумішшю  $\alpha$ -амілази, Алкалази та Целюкласту в кількості 0,5 % до маси насіння при  $\text{pH} 8$  на струшуючій водяній бані за тих самих умов, що і перед пресуванням (співвідношення олійний матеріал : вода становило 1:4). Далі зразкам давали охолонути, ретельно перемішували і потім центрифугували при  $2300\times g$  протягом 20 хв. Отриману суміш

розділити на чотири шари: твердий залишок, водний знежирений шар, кремовий шар емульсії та прозорий шар олії. Щоб відокремити емульсію від вільної олії, центрифугували протягом 20 хв при 4000 об/хв. Як окремий варіант здійснювалася водна ферментативна екстракція тигрових горіхів із застосуванням попередньої обробки матеріалу під тиском 300 МПа. Обробка за даним способом дозволила вилучити більше олії з матеріалу, ніж звичайна водна ферментативна екстракція, що може бути пов'язано із посиленням гідролізу полісахаридів стінок клітин внаслідок дії тиску [79]. Однак, олійність шроту, одержаного після водної ферментативної екстракції матеріалу, була значно вищою, ніж олійність пресової макухи, одержаної із застосуванням попередньої ферментативної обробки, що свідчить про неефективність цього методу для вилучення олії з тигрового горіха [79].

Автори роботи [80] досліджували вплив попередньої ферментативної обробки на ефективність водної екстракції та пресового вилучення олії з м'якоті плодів пекі. Свіжі очищені плоди автоклаували при 121 °С протягом 5 хв. для інактивації пероксидази, упаковували та зберігали в холодильнику при -18 °С. Безпосередньо перед використанням плоди висушували до вологості 22-25 %. Водну екстракцію олії проводили при 80 °С із внесенням та без внесення (контрольний зразок) ферментного препарату в реакційну суміш [80]. В якості ферментного препарату для обробки плодів пекі використовували продукт твердотілого бродіння генно модифікованої культури *Aspergillus niger* 3T5B8. Ферментні екстракти були представлені переважно активністю полігалактуранази та ксиланази [80]. Ферментативну обробку м'якоті плодів пекі проводили за умов: при температурі 45 °С та постійному перемішуванні (50 об/хв) протягом 90 хв., співвідношення вода/м'якоть становило 1:2, кількість внесеного ферментного препарату - 1% (відносно маси м'якоті). Після водної екстракції суміш фільтрували під вакуумом, і одержану рідку фазу центрифугували при 1500 об/хв протягом 20 хвилин для відділення олії [80].

Додавання ферментів під час водної екстракції олії плодів пекі призвело до збільшення її виходу лише на 11 %, що пояснюється високою в'язкістю водної суміші, яка спричиняє втрати олії під час стадії центрифугування. У той же час гідравлічним пресуванням необробленої ферментами м'якоті пекі (контроль) вдалося досягти виходу олії на 20 % вищого порівняно з водною ферментацією (вихід олії становив близько 40 %), а ферментативна обробка перед пресуванням дозволила збільшити вихід олії ще на 5 % [80].

У праці [60] повідомляється про різні стратегії водної екстракції соєвого насіння, що включають різні способи подрібнення, різні екстракційні буфери та ферменти, і, відповідно дозволяють отримувати цілу низку олійних та білкових продуктів. Зокрема, найвищі виходи олії та білків спостерігалися при обробці соєвих екструдованих пластівців протеазою при невеликій кількості води. Вихід олії збільшився від 96 % при одноступеневому вилученні до 99 % при двоступеневому, а вихід білка в свою чергу зріс від 85 % до 96 % відповідно. Хоча на двох стадіях видобутку досягнуто рівнів виходу олії, подібних до звичайної екстракції гексаном (97 %), загалом вихід вільної олії при двоступеневому процесі становив лише 78–80 % через те, що значна її кількість залишилась у знежиреній фракції [60,81-84].

Натомість водна ферментативна екстракція соєвих пластівців дала невисокий вихід олії, що коливався в межах 56-60 %, незалежно від наявності чи відсутності протеази під час обробки. Дещо збільшився вихід екстрагованого білка (на 6 %) при застосуванні протеази. Збільшення виходу білка з соєвих пластівців до 70-77 % стало можливим лише при проведенні їх обробки під високим тиском (200 МПа). Подальше підвищення тиску до 500 МПа знижує розчинність білка і, як наслідок, вихід олії [60,85-87].

Від 60 до 80 % олії було одержано водною екстракцією соєвого борошна, залежно від умов проведення процесу (рН, температури та

розчинності білків, швидкості перемішування, кількості води, застосування ферментів, ультразвуку та низки послідовних стадій екстракції). Зокрема, застосування ультразвуку під час обробки може збільшити вихід олії від 62 % до 90 %. Використання протеаз може збільшити вихід екстрагованої з соєвого борошна олії до 25 %, залежно від кількості води, розміру частинок та швидкості перемішування. Для малого розміру частинок при високій швидкості перемішування (2000 об/хв), протеази не впливають на вихід. Іншим ферментом, який можна використовувати під час водної екстракції соєвого борошна для посилення руйнування клітин, є целюлаза. Використання целюлаз в даному процесі може поліпшити видобуток олії, але лише за певних умов. Зокрема, інкубація соєвого борошна протягом 20 год з сумішшю целюлази, геміцелюлази та пектинази при рН між 4,6 і 5,0, дозволила збільшити вихід олії з 92 до 98 % після чотирьох послідовних екстракцій [30,60,88-91].

Існують також способи водної екстракції цілого соєвого насіння [55,60,92,93]. За одним із таких способів, ціле насіння сої протягом ночі витримують в екстракційному буферному розчині з подальшою гомогенізацією, екстрагуванням, фільтруванням та відділенням олійної фракції центрифугуванням. Спрощений метод дуже нагадує звичайні методи водної екстракції, за винятком додавання солі та сахарози у високих концентраціях та застосування інкубаційного періоду перед екстрагуванням. Екстракційні буфери для такої водної ферментативної екстракції варіюють від лужних трис-буферів з помірною концентрацією солі до буферів з 0,5 M NaCl і 0,4 M сахарози в кислому середовищі [55,60,92,93].

Вважається, що високі концентрації сахарози та солі необхідні для збереження цілісності органел олійних клітин під час видобутку. На додачу до цього, сахароза може сприяти флотації олійних тіл, збільшуючи густину безперервної фази, а також може збільшувати руйнування клітин за рахунок осмотичних ефектів, хоча тверда стінка рослинних клітин зазвичай запобігає

лізису від осмотичного шоку та будь-яким осмотичним ефектам. Використання високої концентрації солі, з іншого боку, збільшує розчинність білка при низькому рН, а також сприяє дії целюлази. В результаті водна фракція олійних тіл, одержана з використанням ферментів, містить 62 % від загальної кількості соєвих білків у неденатурованому вигляді. Відокремлення цих білків від розчинів сахарози та солі ймовірно за допомогою ультрафільтрації або розведення, яке спричиняє ізоелектричне осадження. Вихід олії в результаті водної екстракції цілого насіння сої для одностадійного процесу у плаваючій фракції становить приблизно від 36 % (від загальної кількості в початковому цілому насінні) без використання ферментів, що руйнують клітинні стінки, до 64 % з ферментами та фільтрацією [55,60,92,93].

Найуспішнішими методами деемульгування є екстенсивний протеоліз, або протеоліз з подальшим гідролізом фосфоліпазою міжфазних фосфоліпідів. Крем-емульсію, одержану водною екстракцією екструдованих пластівців сої легше деемульгувати, ніж емульсію з соєвого борошна або пластівців, оскільки водна екстракція екструдованих пластівців з протеазою або без неї вже сама по собі утворює вільну олію без додаткового деемульгування. Додавання протеази під час екстрагування не лише збільшує кількість вільної олії, але й полегшує деемульгування крем-емульсії. Протеази, що використовуються для деемульгування крему, також зберігають від 85 до 100 % від їх початкової активності, дозволяючи використовувати одну й ту саму протеазу як для деемульгування, так і для екстракції. Тим не менш, нижча стабільність крем-емульсії з екструдованих пластівців сої дозволяє здійснити низку успішних стратегій деемульгування, включаючи зниження рН до 4,5 (середнє ізоелектричне значення рН для соєвих білків) та обробку фосфоліпазою. Успіх цих методів обробки свідчить про те, що крем-емульсія з екструдованих пластівців сої стабілізується електростатичним відштовхуванням між поверхневими білками і

фосфоліпідами, а вилучення будь-якої з цих складових призводить до повного злиття крапель олії. Фосфоліпіди відіграють важливу роль у стабільності кремової емульсії, однак усунення фосфоліпідної стабільності для даного виду матеріалу не є однозначним. Додавання невеликих кількостей ЛізоМакс (лізофосфоліпаза А2) фактично підвищує стійкість емульсії із екструдованих пластівців сої, ймовірно, в результаті створення лізофосфоліпідів, які є більш ефективними емульгаторами, ніж інші фосфоліпіди [27,29,31,60,65].

### **1.3.5. Дослідження впливу попередньої ферментативної обробки на ефективність вилучення олії пресовим та екстракційним методами**

Холодне пресування використовується в якості безпечнішого і доступнішого методу для вилучення олії з різного насіння, порівняно з екстракцією розчинником. Основним недоліком цього пресового методу є низький вихід олії, який може бути збільшений за рахунок застосування окремих ферментів. Використання ферментів в процесі вилучення олії із насіння олійних культур здійснюється, щоб полегшити руйнування стінок насіннєвих клітин і таким чином покращити видобуток (вихід олії). Попередня ферментативна обробка при холодному пресуванні вважається екологічно безпечною альтернативою екстракції розчинником зі збільшеним виходом олії та покращенням її якості [17].

Автори роботи [17] досліджували вплив попередньої ферментативної обробки насіння льону на ефективність вилучення з нього олії методом холодного пресування. Перед пресуванням насіння кондиціонували та піддавали ферментативній обробці при заданих і оптимізованих умовах експерименту. Для ферментативної обробки використовували три ферментні препарати (Віскозим, Кемзим і Фідзим) в концентрації 2,0 % (від маси насіння) протягом 6 год (40 °C), зберігаючи при цьому 50 % вміст вологи.

Після інактивації ферментних препаратів та висушування насіння олію вилучали із використанням гідравлічного пресу протягом 20 хв з вхідним тиском 30,0-49,0 МПа. Вихід олії (35,2-38,0 %) при використанні ферментної обробки лляного насіння, хоча і був значно вищий ( $p < 0,05$ ), ніж у контролі (32,5 %), проте нижчий, ніж вилучено за допомогою екстракції гексаном (42,6 %). Кількість вилученої олії була відносно вищою (38,0 %) з насіння, обробленого Віскозимом, в той час як зі зразка після обробки Фідзимом було вилучено найменшу кількість олії (35,2 %). Підвищений вихід олії після ферментативної обробки під час холодного пресування у порівнянні з контролем зумовлений деструкцією стінок клітин лляного насіння, що призводить до вивільнення олії [17].

В роботі [94] були проведені дослідження попередньої ферментативної обробки конопляного насіння. Чисте насіння коноплі було подрібнене з подальшим кондиціонуванням при 100 °C протягом 20 хв. Ферментативний гідроліз проводився при заздалегідь визначених та оптимізованих умовах протягом 6 годин при 40 °C з оптимальною кількістю кожного з п'яти препаратів ферментів: Протекс 7L (протеаза), Віскозим (багатоферментний комплекс, що містить широкий діапазон карбогідраз, включаючи арабіназу, целюлазу,  $\beta$ -глюканазу, геміцелюлазу та ксиланазу), Натизим (в основному целюлаза, ксиланаза, фітаза,  $\alpha$ -амілаза, пектиназа), Фідзим (переважно ксиланаза,  $\beta$ -глюканаза, целюлаза та геміцелюлаза), Кемзим (переважно  $\alpha$ -амілаза,  $\beta$ -глюканаза, комплекс целюлаз, комплекс геміцелюлаз, протеаза і ксиланаза) та Алкалаза 2,4L, при кількості внесеної води – 45 %. Гідролізовані зразки висушували до вологості 3-4% перед пресуванням. Пресування гідролізованих зразків насіння для вилучення олії проводили протягом 20 хв при тиску в діапазоні 29,4-49,0 МПа. В результаті досліджень було виявлено, що вихід пресової олії з оброблених ферментами зразків (28,4-32,8 %) був значно вищим, ніж з контрольного (26,7 %). Високий вихід олії (32,8 %) був виявлений у зразках, оброблених

Віскозимом, тоді як Протекс 7L забезпечив найнижчий вихід олії (28,4%). Вищий видобуток олії внаслідок обробки Віскозимом можна пояснити порівняно кращою солюбілізацією компонентів структури клітинної стінки, обробленої цим ферментом. Попередня ферментативна обробка полегшує руйнування білкових структур навколо ліпідних тіл, а також підтримує перетворення складних молекул ліпопротеїну насіння на прості ліпідні та білкові молекули. Під час аналізу макухи конопляного насіння після попередньої ферментативної обробки не було виявлено помітних відмінностей вмісту білка, клітковини та золи порівняно з контрольним зразком [94].

Під час ферментативної обробки для пресового вилучення олії попередньо замочене протягом 6 годин та подрібнене (0,425 мм) насіння тигрового горіха [79] обробляли ферментною сумішшю алкалази,  $\alpha$ -амілази та Віскозиму у співвідношенні 1:1:1 в кількості 1,0 % до маси насіння при рН 8 протягом 6 годин за температури 40 °C на струшуючій водяній бані, співвідношення олійний матеріал : вода становило 1:1,7. Використання  $\alpha$ -амілази та протеази було пов'язане з присутністю в горіхах крохмалю, тоді як Віскозим був доданий для гідролізу клітинної стінки. Після інкубації суміш висушували у вакуумній печі при 55 °C та максимальному тиску 700 мм рт.ст. до вмісту вологи 6,5-8 % та вилучали олію з матеріалу пресовим способом [79].

Гідравлічне пресування м'якоті плодів пекі [80] здійснювали при 5000 або 10 000 psi протягом 1 години із застосуванням та без застосування (контрольний зразок) попередньої ферментативної обробки. З метою вилучення залишків олії з макухи, одержаної після гідравлічного пресування ферментативно обробленої та необробленої м'якоті плодів пекі, макуху висушували та екстрагували 95 % мас/мас етанолом (співвідношення розчинник : субстрат - 3:1) при 65 °C протягом 1 години. Одержану суміш фільтрували під вакуумом, а етанол видаляли під вакуумом у роторному

випарнику [80]. Вихід олії з необробленої ферментами м'якоті пекі (контроль) під час гідравлічного пресування становив близько 40 %, тоді як ферментативна обробка перед пресуванням дозволила збільшити вихід олії ще на 5 %. Найбільшого значення виходу олії (68 %) вдалося досягти поєднанням попередньої ферментативної обробки перед пресуванням м'якоті плодів пекі з подальшою екстракцією розчинником залишків олії у пресовій макусі [80].

В ряді наукових робіт були також наведені дослідження впливу попередньої ферментативної обробки олійного матеріалу на ефективність вилучення з нього олії екстракцією органічним розчинником. Зокрема, автори праці [95] запропонували використання попередньої ферментативної обробки для збільшення виходу олії з пластівців бавовняного насіння. До змінних параметрів даного експерименту належали: концентрація ферменту – 1 %, 2 % та 3 % (відносно маси зразка), гідромодулі – 5,5:1; 7:1 та 10,5:1, тривалість гідролізу – 3 та 6 год. Інші умови, такі як температура та рН, залежали від рекомендацій виробників для кожного ферментного препарату, який використовували у досліді. Відповідно, для папаїну це – 25 °C і рН 6,2; для бактеріальної протеази – 37 °C і рН 7,5; для савінази – 55-60 °C і рН 8–11; для термамілу – 85–115 °C і рН 5,6–6,6. Крім застосування окремих ферментів, також використовували обробку матеріалу ферментними сумішами, які формували з використанням бактеріальної протеази (Бп), папаїну (Па), савінази (С), термамілу (Т), целюлази (Ц) та пектинази (Пе). Складені ферментні суміші представлені в Таблиці 1.3 [95].

Таблиця 1.3

## Складені ферментні суміші та умови їх використання [95]

| № експерименту | Ферментна суміш                     | pH  | Температура, °C |
|----------------|-------------------------------------|-----|-----------------|
| 1              | С : Бп<br>(1 : 1)                   | 8   | 40              |
| 2              | С : Па<br>(1 : 1)                   | 7   | 30              |
| 3              | С : Т<br>(1 : 1)                    | 7   | 70              |
| 4              | С : Ц<br>(1 : 1)                    | 6,5 | 45              |
| 5              | С : Пе<br>(1 : 1)                   | 6   | 35              |
| 6              | С : Пе : Бп<br>(0,66 : 0,66 : 0,66) | 6,5 | 50              |
| 7              | С : Пе : Ц<br>(0,66 : 0,66 : 0,66)  | 6,5 | 50              |

Гідролізовані пластівці відділяли фільтруванням, висушували, подрібнювали та піддавали екстракції з них олії в апараті Сокслета з використанням н-гексану. Екстракцію проводили в дві послідовні стадії тривалістю по 12 год. Найбільший відносний приріст виходу олії (розрахований відносно контрольного досліду) при обробці пластівців бавовняного насіння: *бактеріальною протеазою* становив 26,1 % (при концентрації ферменту – 3 %, гідромодулі – 7:1 та тривалості гідролізу – 6 год.); *папаїном* – 22,7 % (концентрація ферменту – 3 %, гідромодуль – 5,5:1, тривалість – 3 год.); *савіназою* – 27,7 % (концентрація ферменту – 1 %, гідромодуль – 7:1, тривалість – 3 год.); *термамілом* – 23,9 % (концентрація ферменту – 3 %, гідромодуль – 5,5:1, тривалість – 6 год.). Серед ферментних сумішей, якими оброблялись пластівці бавовняного насіння, до найбільшого відносного приросту виходу олії (44,9 %) призвела обробка сумішшю савінази, пектинази та бактеріальної протеази (С : Пе : Бп). Відносні прирости виходу олії при попередній обробці пластівців бавовняного насіння різними ферментними сумішами спрощено можна навести в такому порядку: С:Пе:Бп > С:Пе > С:Пе:Ц > С:Бп > С:Т > С:Ц > С:Па, зі значеннями 44,9 %, 44,9 %, 44,9 %, 44,9 %, 44,9 %, 44,9 %, 44,9 %.

39,7 %, 38,9 %, 37,1 %, 34,9 %, 30,1 %, 28,9 %, відповідно. Результати даного дослідження підтвердили той факт, що використання ферментних сумішей для попередньої обробки олійного матеріалу є більш ефективним для збільшення виходу олії, ніж обробка поодинокими ферментними препаратами [95].

Цікавим є дослідження [96] відносно можливості збільшення виходу олії з гірчичного насіння внаслідок його попередньої обробки целюлазою, протеазою та пектиназою, що містились у сирих екстрактах фільтратів, одержаних у результаті бродіння індивідуальних та змішаних культур *Aspergillus niger* та *Trichoderma reesei*, із застосуванням відходів кинових (*Citrus reticulata*) та пшеничних висівок в якості субстрату для бродіння. Автори даної роботи зробили припущення, що целюлаза, пектиназа та протеаза необхідні для розриву зв'язків ліпопротеїдів та ліпополісахаридів, присутніх в гірчичному насінні, тому всі ці ферменти повинні міститись у суміші для попередньої обробки даної олійної культури. Хоча у виробництві харчових продуктів більш бажаним є застосування чистих ферментів, їх очищення є складним і виснажливим процесом, особливо коли ферменти виробляються мікроорганізмами. З іншого боку, щоб уникнути трудомісткого очищення білків, організм повинен бути генетично модифікований для отримання певного ферменту у великій кількості. Високоспецифічні комерційні ферменти є дуже дорогими, а вартість лише одного ферменту суттєво впливає на виробничу собівартість процесу. Неочищені ферментні екстракти мають значну перевагу з точки зору наявності в них таких ферментів, як целюлаза, пектиназа,  $\beta$ -глюканаза та протеаза в одному екстракті та відносно низької собівартості їх одержання. Недоліком використання сирих ферментних екстрактів є обмеження їх активності через блокування деяких їх активних центрів солями та дрібними поліпептидами. В результаті дослідження [96] найвищого приросту виходу гірчичної олії (на 11 % вище, порівняно з контрольним зразком) було досягнуто при попередній

обробці гірчичного насіння ферментним препаратом, одержаним в результаті бродіння змішаних культур *Aspergillus* і *Trichoderma*, при співвідношенні в ньому між екзополігалактуроною (основний компонент пектинази), целюлазою та протеазою – 2:1:1, відповідно [96].

Автори роботи [97] спрямували свої дослідження на пошук оптимальних параметрів попередньої ферментативної обробки ядер абрикосових кісточок сирими ферментними екстрактами, одержаними із використанням культур *Aspergillus foetidus* (виробляє ферменти з пектолітичною активністю) та *Trichoderma viride* (ферменти з целюлолітичною активністю). Після інкубації подрібнених ядер кісточок дикого абрикосу з ферментним препаратом їх висушували при 70 °С для інактивації ферментів та зменшення вмісту води до 3–6 %. До змінних параметрів оптимізації експерименту відносились: вміст води під час гідролізу, концентрація ферменту, співвідношення пектолітичних та целюлолітичних ферментів у ферментній суміші, а також тривалість обробки. Всі ці параметри досліджували на п'яти рівнях кожен та варіювали в межах, відповідно: від 20 до 32 % (мас.%), від 12 до 16 % (об'єм на одиницю маси зразка), від 3:7 до 7:3 (пектолітична : целюлолітична активність) та від 12 до 16 годин. На першій стадії з усіх зразків матеріалу, оброблених за різних експериментальних умов, олію вилучали екстракцією розчинником протягом 8 годин в апараті Сокслета. Максимальне збільшення виходу олії (на 2,53 % порівняно з контролем) було досягнуто обробкою зразків при вмісті води під час гідролізу – 23 % (% мас.), концентрації ферменту – 15 % (об./мас. зразка), співвідношенні пектолітичний : целюлолітичний фермент – 60:40, відповідно, та тривалості інкубації – 13 годин [97].

Олію з ферментативно оброблених та контрольних зразків ядер абрикосових кісточок [97] вилучали також пресовим методом при різних значеннях тиску (15,14 МПа, 45,43 МПа та 75,71 МПа) та при різній тривалості дії тиску на матеріал (від 3 до 11 хв. з кроком 2 хв.). В результаті

дослідження було виявлено експоненціальну кореляцію між значеннями тиску пресування та кількістю видобутої олії: при тиску 15,14 МПа та тривалості пресування 11 хв. з ферментативно обробленого матеріалу було вилучено 90,55 % олії, при 45,43 МПа – 86,89 %, а у випадку 75,71 МПа рівень вилучення олії знизився. У всіх випадках відсоток вилученої олії збільшувався зі збільшенням тривалості витримки при різних тисках. З оброблених ферментами зразків олія видалялася швидше порівняно з контрольними зразками [97].

### **1.3.6. Вплив попередньої ферментативної обробки на склад, якість та вміст біологічно цінних речовин в олії**

Статистично не спостерігалось ніяких помітних відмінностей для значень йодного числа, густини, показника заломлення, числа омилення або вмісту неомилуваних речовин у лляній олії, одержаній екстракцією органічним розчинником та холодним пресуванням з попередньою ферментативною обробкою і без неї (контроль) [17]. Аналогічно, в оліях, одержаних пресуванням попередньо оброблених ферментами зразків конопляного насіння [94] та зразка без попередньої ферментативної обробки, були відсутні значні відмінності значень йодного числа (152-158 г J/100 г олії), індексу заломлення при 40 °C (1,4701-1,4703), густини при 24 °C (0,93 мг/мл), а також неомилуваних речовин (0,24-0,27 %). Спостерігалися незначні коливання чисел омилення (181-185 мг КОН/г олії), вмісту вільних жирних кислот (1,73-1,87 %) та пероксидних чисел (1,54-1,62 ммоль ½O на кг олії) [94]. У оліях, одержаних з використанням обробки насіння Кемзимом, було виявлено відносно нижчі вміст вільних жирних кислот та значення йодного числа, в той час, як олії, одержані за допомогою обробки Натизимом, мали кращі сенсорні показники [94]. В оліях, що були одержані пресуванням з попередньою обробкою ферментами, було виявлено помітно

вищі значення колірному числу, ніж в контрольному зразку. Спектрофотометричні вимірювання при 232 і 270 нм показали, що ступінь окиснення олій, вилучених з оброблених ферментом зразків насіння коноплі (3,76-3,80 і 0,58-0,62, відповідно) були майже рівними цим же показникам контролю (відповідно, 3,78 і 0,63) [94]. Показники кислотного, пероксидного, йодного чисел та числа омилення для пресової олії плодів пекі [80], одержаної із застосуванням попередньої ферментативної обробки конвективно висушених плодів пекі, становили, відповідно: 1,46 мг КОН/г, 2,98 ммоль  $\frac{1}{2}$ O/кг, 49,13 і 189,40 мг КОН/г. Значення усіх вищеперелічених показників були нижчими, ніж значення, виявлені у зразках комерційної олії, відповідно: 2,48 мг КОН/г, 5,22 ммоль  $\frac{1}{2}$ O/кг, 51,28 і 198,48 мг КОН/г. Одержані результати вказують на гідроліз та окиснення ліпідних сполук, які відбувалися в промислово одержаній олії. В той же час нижче йодне число пресової олії, порівняно з комерційною, могло бути наслідком окиснення ненасичених жирних кислот під час попередньої ферментативної обробки [80]. Попередня обробка гірчиного насіння [96] неочищеним ферментним екстрактом, одержаним в результаті бродіння змішаних культур *Aspergillus niger* та *Trichoderma reesei*, призвела до покращення якості одержаної олії порівняно з контролем, зокрема, спостерігалися дещо нижчий вміст карбонільних сполук, нижче кислотне число та вище йодне число. Незначне поліпшення якості олії могло бути наслідком руйнування перед ферментативною обробкою таких ферментів, як мірозіназа та ліпаза [96]. Мірозіназа, як відомо, розщеплює глюкозинолати, присутні в гірчиному насінні, до продуктів, що можуть негативно впливати на якість олії. Ліпаза, в свою чергу, розщеплює ліпіди до жирних кислот, що призводить до більш високого кислотного числа у контрольних зразках олії, порівняно зі зразками, одержаними за допомогою попередньої ферментативної обробки [96].

Вміст пероксидів і карбонільних сполук, які свідчать про первинне і вторинне окиснення олій, були нижчими в лляній олії, одержаній з

обробленого ферментами матеріалу. Це підтвердило той факт, що ферментативна обробка лляного насіння перед холодним пресуванням гальмує окиснення олії. У той же час екстракція розчинником здійснюється за підвищеної температури, що може негативно впливати на стійкість олії до окиснення, і таким чином призводить до одержання прогірклої олії низької якості [17]. Індукційний період окиснення лляної олії зріс до 1,25-1,44 год в результаті попередньої ферментативної обробки порівняно з 1,00 год – для олії, вилученої екстракцією в апараті Сокслета, і 1,22 год – для контрольного зразка олії [17]. Аналогічно, окиснювальна стабільність олій, одержаних з проферментованих зразків конопляного насіння, була вищою (індукційний період 1,44-1,71 год), ніж контролю (1,35 год) [94]. Збільшення індукційного періоду у випадку ферментативної обробки може бути пов'язане із збільшенням вмісту в олії токоферолів [17,94].

Використання ферментних препаратів, під час видобутку олії з насіння, призводить до більшої кількості токоферолів і фенолів у вилученій олії за рахунок збільшення доступності таких біологічно активних компонентів під час гідролізу стінок клітини. В деяких випадках збільшення кількості токоферолів та інших біологічно активних речовин у оліях, вилучених за допомогою попередньої ферментативної обробки, можна пояснити зменшенням комплексоутворення таких сполук з полісахаридами насіння, а отже, посилення їх проникнення в олійну фазу [94].

Загальна кількість токоферолів при ензимному вилученні лляної олії (350,7-365,7 мг/кг) була значно вищою, ніж при екстракції олії гексаном (228,0 мг/кг) і холодному віджимі контрольного зразка (270,0 мг/кг) [17]. Вилучені за допомогою попередньої ферментативної обробки зразки конопляної олії [94] містили більше токоферолів (724,4-788,4 мг/кг), ніж контроль (691,2 мг/кг), демонструючи збільшення загального вмісту токоферолів приблизно на 5-14 %. Концентрації  $\alpha$ -,  $\gamma$ - та  $\delta$ -токоферолів у оліях, вилучених з проферментованих зразків насіння, варіювали в межах

від 35 до 53 мг/кг, від 654 до 725 м /кг і від 24,1 до 35,8 мг/кг відповідно [94]. Вміст  $\alpha$ -токоферолу (вітамін Е) і  $\delta$ -токоферолу, який проявляє більшу антиоксидантну активність, ніж будь-який з  $\gamma$ -,  $\beta$ - або  $\alpha$ -токоферолів, був значно вищим у олії, вилученій за допомогою попередньої обробки конопляного насіння препаратом Кемзим (53 і 35,8 мг/кг, відповідно), ніж у оліях, одержаних з інших проферментованих зразків насіння, та в контролі. Було виявлено, що найстійкішою до окиснення є олія, отримана ферментацією насіння препаратом Кемзим (1,71 год), що може бути пов'язано з наявністю більш високих рівнів  $\delta$ -токоферолу в цій олії. З іншого боку, олії, одержані із застосуванням препарату Натизим, хоча і містили менше  $\alpha$ -токоферолів (35,6 мг/кг), однак, мали найвищий рівень  $\gamma$ -токоферолу (725 мг/кг) [94]. Вміст  $\alpha$ -токоферолу в пресовій олії тигрового горіха [79], одержаній при обробці ферментами, був вищий, ніж в контрольному зразку пресової олії. Однак, загальний вміст токоферолів був найвищим у олії, одержаній водною ферментативною екстракцією насіння тигрового горіха з попередньою обробкою тиском. Вміст  $\beta$ -токоферолу був значно меншим порівняно з вмістом  $\alpha$ -токоферолу і був приблизно однаковим для всіх одержаних зразків олії [79].

Антиоксидантну здатність олій, як відомо, визначає також загальний вміст поліфенолів [79]. Основні фенольні кислоти, які були визначені в лляному насінні: гідроксибензойна кислота (1,2-3,20 мкг/100 г), ванілінова (0,6-100 мкг/100 г) і ферулова кислоти (0,45-0,95 мкг/100 г). Вміст цих фенольних сполук був вищий в ферментативно добутій лляній олії, ніж в екстрагованій розчинником і в контролі [17]. В оліях тигрового горіха [79], одержаних пресуванням із застосуванням попередньої ферментативної обробки, було виявлено чотири прості фенольні сполуки: транс-ферулову, ванілову, ванілінову та транс-коричну кислоти. Попередня ферментативна обробка підвищувала концентрацію всіх окремих фенольних сполук, особливо транс-ферулової кислоти, концентрація якої була найвищою (6,2

мкг/г). З іншого боку, використання ферментів для обробки матеріалу перед пресуванням зменшило загальний вміст поліфенолів у пресовій олії, що можна пояснити сприянням етапу сушіння вакуумом втраті поліфенольних сполук або дією окиснювальних ферментів, таких як поліфенолоксидаза. Дещо меншою була також кількість фенольних сполук в олії тигрового горіха, одержаній водною ферментативною екстракцією, особливо транс-ферулової кислоти, кількість якої була майже вдвічі меншою, ніж в пресовій олії, що пояснюється використанням Целюкласту замість Віскозиму. Найвищий вміст поліфенольних сполук мала олія, одержана водною ферментативною екстракцією із застосуванням попередньої обробки під високим тиском. Таким чином, олія, одержана водною ферментативною екстракцією із застосуванням обробки тиском, може мати більш високу антиоксидантну здатність, ніж олії, вилучені іншими методами [79].

Порівняння зразків гарбузової олії [54], вилученої холодним пресуванням і водною екстракцією, виявило значні відмінності за вмістом токоферолів, каротиноїдів, стеролів і сквалену. Стероли (прибл. 53 % від загальної кількості фітохімічних речовин) і сквален (прибл. 28 %) переважали в обох типах олії. Олія, вилучена водною екстракцією, містила більше в токоферолів (на 24 %), стеролів (на 21 %) і скваленів (на 22 %), і лише трохи менше каротиноїдів (на 8 %). Таким чином, олія, вилучена водною екстракцією, містила 410,1 мг фітохімічних речовин на 100 г олії, в той час як олія холодного віджиму містила тільки 343,2 мг на 100 г олії [54]. Основними ізомерами каротиноїдів у гарбузовій олії були лютеїн і  $\beta$ -каротин, вміст яких коливався від 30,1 до 38,7 % (лютеїн), та від 25,3 до 28,1% ( $\beta$ -каротин) в залежності від способу екстракції. Крім того, були ідентифіковані 9-цис- $\beta$ -каротин,  $\alpha$ -каротин і сліди зеаксантину. Серед стеролів переважали спіностерол і  $\beta$ -ситостерин, на частку яких припадало приблизно 50 % в цілому. Крім них, аналіз виявив наявність кампестеролу, стигмастеролу,  $\Delta 7,22,25$ -стигмастеролу і деякі гомологи  $\Delta 7$ -стероли.  $\Delta 7$ -стероли переважали

в гарбузовій олії. У свою чергу, стероли гарбузової олії були складені майже виключно з  $\beta$ -ситостеролів (приблизно 75 % від загальної кількості). Водна екстракція істотно впливала на склад стеролів гарбузової олії, зі значним збільшенням вмісту спінастеролу,  $\gamma$ -ситостеролу,  $\Delta 7,22,25$ -стигмастатрієнолу та  $\Delta 7,25$ -стигмастадієнолу, і значним зниженням вмісту кампестеролу [54].

Водночас, зразки гарбузової олії, одержані водною екстракцією, містили більше вільних жирних кислот і первинних продуктів окислення, ніж олії після холодного віджиму (4,9 проти 1,4 мг КОН/г, і 1,8 проти 1,0 ммоль  $\frac{1}{2}$ O/кг, відповідно). Основною причиною підвищення вмісту вільних жирних кислот, ймовірно, була тривала активність нативних ферментів насіння, особливо ліпази, оскільки оптимальна температура і рН для ліпаз різного походження коливається в межах від 30 до 80 °С, і між 4,5 і 11, відповідно. Незважаючи на те, олія, що одержана водною екстракцією, характеризується більш високою концентрацією розчинних антиоксидантів, її індукційний період склав 6,55 год, що було приблизно на 30 % менше, ніж в олії холодного віджиму (9,38 год) [54].

Не було виявлено суттєвих змін внаслідок дії ферментів у жирнокислотному складі всіх зразків олій, одержаних різними способами [17,54,79,80,94]. Склад жирних кислот гарбузової олії, вилученої холодним пресуванням і водною екстракцією, відрізнявся незначно за вмістом олеїнової (бл. 53-56 %), пальмітинової і лінолевої кислот (бл. 13-14 %) [54]. Основними жирними кислотами олії з м'якоті пекі є олеїнова та пальмітинова (60 % та 34 % відповідно) [80]. Досліджувані олії з насіння конопель [94] в основному містили лінолеву (18: 2n-6) та  $\alpha$ -ліноленову (18: 3n-3) кислоти, які становили відповідно 54,22-57,89 % та 18,29-18,73 %, відповідно, від загальної кількості жирних кислот. Крім того, в досліджуваних оліях також було виявлено 1,84-1,91 %  $\gamma$ -ліноленової кислоти (18:3n-6).  $\gamma$ -ліноленовій кислоті останнім часом приділяється багато уваги, зважаючи на її користь для здоров'я людини [94].

#### **1.4. Постановка мети та завдань дослідження**

На підставі проведеного літературного огляду встановлено, що гарбузова олія є надзвичайно цінним джерелом антиоксидантів та інших біологічно активних речовин, що обумовлює її корисні властивості у лікуванні та профілактиці багатьох захворювань. Існує велика кількість перспективних способів одержання олії з насіння гарбузів. Результати попередніх досліджень, проведених вченими для інших олійних культур підтверджують необхідність подальшого вивчення та вдосконалення ферментативної технології переробки рослинної сировини.

Робоча гіпотеза дисертаційної роботи полягає в тому, що використання ферментативної обробки олійного насіння перед пресуванням дозволить збільшити вихід олії внаслідок інтенсифікації ферментами процесів руйнування клітинної структури олійного матеріалу. На підставі цього, основними завданнями роботи є дослідження дії протеолітичних, целюлолітичних, геміцелюлолітичних та пектолітичних ферментів на клітинну структуру насіння гарбузів, підбір оптимальних параметрів попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння, визначення впливу технології на якість, склад та антиоксидантні властивості одержаної олії.

## **РОЗДІЛ 2**

### **ХАРАКТЕРИСТИКИ ОБ'ЄКТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ, МЕТОДИКИ ПРОВЕДЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТІВ**

Виконання роботи передбачало проведення теоретичних та експериментальних лабораторних досліджень, моделювання процесу обробки досліджуваної олійної сировини, узагальнення та висновки із теоретичних і експериментальних результатів, та розроблення практичних рекомендацій щодо застосування результатів досліджень.

Експериментальні дослідження проводилися в науково-дослідних лабораторіях кафедри технології жирів, хімічних технологій харчових добавок та косметичних засобів Національного університету харчових технологій (Київ, Україна) та у лабораторіях кафедри харчової науки і технології Віденський Інститут біотехнології Університету Природних ресурсів та природничих наук (BOKU), (Відень, Австрія).

## 2.1. Характеристика об'єктів досліджень

Для проведення дослідження було використано сировину:

- 1) насіння гарбуза звичайного (згідно ДСТУ 6006:2008) [98] з вмістом олії – 40,3 % та початковим вмістом вологи – 6,4 %.
- 2) насіння гарбуза голонасінного (*Cucurbita pepo*), надане фермою в Доберндорфі (Горн, Нижня Австрія), олійність насіння становила 49,1 %, вміст вологи – 6,5 %.
- 3) Ферментні препарати протеолітичної, целюлолітичної, геміцелюлолітичної та пектолітичної дії, зокрема: Протолад, Целюлад, Пеніцилопепсин, Алкалаза FG, Нейтраза, Флавозим, Пентопан 500 BG, пепсин, папаїн, целюлаза, пектиназа та Віскозим.

Протолад – ферментний препарат бактеріальної протеази, отриманий шляхом спрямованої ферментації селекційного штаму *B.subtilis* з подальшим очищенням. Протолад каталізує гідроліз високомолекулярних білків з утворенням низькомолекулярних пептидів. Ферментний препарат виробляється відповідно до вимог ТУ У 24.1-32813696-016:2008 («Ензим», Україна). Робочий діапазон температур та рН — 30—40 °С та 7,2±0,2 відповідно, активність — не менше 16585 од/г.

Целюлад – комплексний ферментний препарат целюлази для гідролізу некрохмальних полісахаридів сировини. Крім основної активності целюлази, препарат містить значні кількості геміцелюлази та ксиланази. Препарат отримують шляхом спрямованої ферментації селекційного штаму *Tr. reeseii*, з наступним очищенням та концентруванням. Продукт відноситься до ферментів харчової якості, відповідає рекомендованим специфікаціям WHO и JECFA та виробляється відповідно до вимог ТУ У 24.1–32813696–016:2008 («Ензим», Україна). Робочий діапазон температур та рН — 40—50 °С та 5,5—6,5 відповідно, активність — не менше 10000 од/г.

Пеніцилопепсин — сухий ферментний препарат грибної протеази, отриманої шляхом спрямованої ферментації селекційного штаму *Pen.*

*canescens* з подальшим очищенням і концентруванням («ЕнзимБіотех», Україна). Пеніцилопепсин каталізує гідроліз високомолекулярних білків з утворенням низькомолекулярних пептидів, є стабільним у присутності хелатуючих агентів, таких як EDTA, і має низьку сприйнятливість до триполіфосфатів, наявність іонів кальцію збільшує стабільність при 30 °C. Робочий діапазон температур та pH — 20—60 °C та 3,0—6,0 відповідно, оптимальні діапазони температури та pH — 40—50 °C та 4,0—5,0 відповідно, активність — 50 од/г.

Алкалаза FG – протеолітичний препарат, отриманий глибинною ферментацією селекціонованого штаму *Bacillus licheniformis*. Основний ферментний компонент Субтилізин А (= Субтилізин Карлсберг) є ендопротеазою. Алкалаза – це високоефективна бактеріальна протеаза, спеціально розроблена для гідролізу всіх видів білків. Препарат являє собою темнокоричневу рідину, легко розчинний у воді при всіх концентраціях. Робочий діапазон температур та pH — 40—70 °C та 5,5—10,5 відповідно, активність — не менше 2,4 AU/г (Алкалаза стандартизована в одиницях Ансона (Anson Units) на грам (AU/г) згідно зі специфікаціями, наданими виробником - «Novozymes», Данія).

Нейтраза – нейтральна протеаза, отримана із спеціально відібраного штаму *Bacillus amyloliquefaciens*, прозора бура рідина з концентрацією протеїну приблизно 1,25 г/мл. Застосовується при затиранні з метою збільшення вмісту вільного амінного азоту (FAN - Free Amino Nitrogen) у заторі. Нейтраза містить тільки нейтральну частину *B. amyloliquefaciens*, тоді як більшість інших комерційних препаратів містить також лужну протеазу. Нейтраза містить нестандартизовану кількість бетаглюканази. Робочий діапазон температур та pH — 30—60 °C та 5,5—7,5 відповідно, активність — не менше 0,8 AU/г (Нейтраза стандартизована в одиницях Ансона (Anson Units) на грам (AU/г) згідно зі специфікаціями, наданими виробником - «Novozymes», Данія).

Пентопан 500 BG – очищений ферментний препарат, що продукується штамом *Humicola insolens*. Препарат містить ксиланазу, що гідролізує (1,4)-бета-D-ксилозидні зв'язки в ксиланах та забезпечує модифікацію некрохмальних полісахаридних фракцій пшеничного борошна. Пентопан 500 BG є сипким агломерованим гранулятом світло-коричневого кольору, що не розпилюється, середній розмір частинок складає 150 мікрон в діапазоні 50–212 мікрон. Продукт стандартизований з використанням пшеничного борошна у відповідності з документально оформленим Доповненням, регламентованому системою якості Новозаймс ISO 9001. Активні компоненти ферментного препарату Пентопан 500 БГ добре розчиняються у воді в будь-яких концентраціях, які застосовуються на виробництві. Розчини ферментного препарату у воді можуть бути мутними, тому що носієм ферменту є пшеничне борошно, що використовується для стандартизації препарату. Робочий діапазон температур та рН — 40—50 °C та 5,0—6,0 відповідно, активність — не менше 2700 FXU/г (Пентопан 500 BG стандартизований в одиницях активності ксиланаз на грам (FXU/г) згідно зі специфікаціями, наданими виробником – «Novozymes», Данія).

Пепсин – фермент слизової оболонки шлунка свиней («Carl Roth», Німеччина). Заявлена активність при рН 2,0 і 37 °C становить 800–2500 од./мг твердої речовини, де 1 од. відповідає зміні оптичної густини розчину гемоглобіну, як субстрату, після осадження трихлороцтовою кислотою, виміряної на довжині хвилі 280 нм, на 0,001 за хвилину.

Папаїн – ферментний препарат із протеолітичною активністю, що одержують з сирого порошку латексу папайї (*papaya latex*) («Sigma-Aldrich», США). Заявлена активність при рН 6,2 (оптимум) і 25 °C становить 2,1 од./мг твердої речовини, де 1 од гідролізує 1 мкмоль/хв етилового ефіру N- $\alpha$ -бензоїл-L-аргініну за хвилину.

Целюлазу отримують з *Aspergillus sp.* («Sigma-Aldrich», США). Заявлена активність при рН 4,5 і 50 °C становить 1000 CU/г, де 1 CU

(одиниця целюлази) відповідає кількості ферменту, який виробляє 1 мкмоль/хв глюкози з карбоксиметилцелюлози.

Пектиназу одержують зі штаму *Aspergillus aculeatus* («Sigma-Aldrich», США). Заявлена активність при рН 3,5 (оптимум) і 20 °С становить 3800 PGU/мл суспензії, де PGU - полігалактуранові одиниці. Стандартну активність визначають шляхом вимірювання зниження в'язкості розчину пектинової кислоти.

Віскозим ферментний препарат, що виробляється *Aspergillus sp.* (мультиферментна суміш, що містить целюлазу,  $\beta$ -глюканазу та геміцелюлази, такі як арабіназа та ксиланаза) («Sigma-Aldrich», США). Заявлена активність при рН 5,0 і 50 °С становить 100 FBGU/г, де FBGU - одиниці грибової  $\beta$ -глюканази.

## **2.2. Методи досліджень**

### **2.2.1. Методика проведення волого-теплової та попередньої ферментативної обробки олійного насіння.**

Під час дослідження впливу рН середовища та співвідношення протеолітичних і целюлолітичних ферментів у ферментній суміші, внесеної під час ферментативної обробки матеріалу, на ефективність пресового вилучення з нього олії, дослідні зразки насіння гарбуза звичайного, подрібненого до розміру частинок  $\leq 10,0$  мм, були оброблені водними розчинами сумішей ферментних препаратів з протеолітичною та целюлолітичною активністю при співвідношеннях 3:7, відповідно, та 7:3, відповідно (Таблиця 2.1), протягом 2 год. при  $t = 48 \dots 54$  °С і при рН 5,2 та 7,2. Кількість ферментної суміші складала 0,6 % від маси зразка насіння. Після ферментативної обробки усі зразки висушували в сушильній шафі при  $t = 100 \dots 105$  °С до значення вологості 7,0-7,5 %. Контрольні зразки насіння були оброблені за тих самих умов, але без внесення ферментів.

Під час дослідження впливу кількості ферментної суміші та кількості вологи, внесених під час ферментативної обробки матеріалу, на ефективність пресового вилучення з нього олії, дослідні зразки подрібненого насіння гарбуза звичайного попередньо були оброблені водними розчинами сумішей ферментних препаратів з протеолітичною та целюлолітичною активністю при різних співвідношеннях протягом 2 год. при рН 5,2 та  $t = 48 \dots 54$  °С, кількість ферментної суміші складала 0,3 %, 0,6 %, 1,2 %, 1,8 % та 2,4 % від маси зразка насіння (Таблиця 2.1). Кількість внесеної разом з ферментами вологи становила 15 %, 25 %, 35 % та 50 % від маси насіння, а тривалість висушування відповідно – 30 хв, 60 хв, 90 хв та 150 хв. Усі зразки висушували в сушильній шафі при  $t = 100 \dots 105$  °С. Контрольні зразки насіння були оброблені за тих самих умов, але без внесення ферментів.

Для дослідження впливу попередньої ферментативної обробки на структуру клітин олійного матеріалу, насіння гарбуза голонасінного подрібнювали на лабораторному млині до розміру частинок  $\leq 5,0$  мм. 10 г подрібненого матеріалу поміщали в конічні колби на 250 мл, та додавали 10 мл розчину ферменту з рН 5,5 (кількість ферменту становила 0,6 % від маси зразка насіння). Отримані суспензії були витримані на водяній бані протягом 2,0 год при 48–52 °С з ручним перемішуванням через кожні 20 хв. Після закінчення обробки ферменти інактивували на водяній бані при 80 °С. Контрольні зразки обробляли в тих же умовах, що й дослідні, тільки без ферментів.

У деяких експериментах використовували ферментні суміші, такі як пепсин+Віскозим+пектиназа, пепсин+целюлаза+пектиназа, папаїн+Віскозим+пектиназа або папаїн+целюлаза+пектиназа зі співвідношенням ферментів у кожній з них 1:1:1 (кількість ферментної суміші становила 1,8 % від маси зразка насіння) (Таблиця 2.1), за параметрів обробки, описаних вище. Крім того, в експериментах використовувалися також підвищені кількості ферментної суміші пепсин+Віскозим+пектиназа

(3,0 і 6,0 % від маси зразка насіння). Кожен варіант обробки проводили в трьох повторностях. Після інкубації та інактивації ферменту всі дослідні та контрольні зразки переносили з колб у випарні порцелянові чашки та сушили спочатку в сушильній шафі при 100–110 °С протягом 3,0–3,5 год, а потім протягом ночі при кімнатній температурі до досягнення вологості 0–2,0 %. Висушений матеріал повторно подрібнювали в лабораторному млині та використовували для визначення кількості «зруйнованих» клітин.

Для дослідження впливу обробки насіння гарбуза голонасінного ферментною сумішшю пепсин+Віскозим+пектиназа на вихід пресової олії, 200 г насіння було подрібнено в лабораторному млині до розміру частинок  $\leq 10,0$  мм. Кожну порцію обробляли 70 мл розчину з рН 5,5 суміші ферментів у співвідношенні 1:1:1 (кількість ферментної суміші становила 1,8 % від маси зразка насіння) (Таблиця 2.1). Оброблений матеріал інкубували при 48–52 °С протягом 2,0 год при постійному струшуванні. Експеримент проводили в трьох повторностях. Контрольні зразки також інкубували в трьох повторах за тих же умов, що й експериментальні зразки, але без додавання ферментів. Після інкубації всі зразки висушували в сушильній шафі при 100–110 °С протягом 1,5–2,0 год при ретельному перемішуванні кожні 30 хв до вологості 3,0–4,3 %.

Таблиця 2.1

Ферментні суміші для обробки гарбузового насіння

| Композиційний склад ферментної суміші | Співвідношення ферментів у суміші | Активності ферментів у суміші, од/г | Загальна кількість ферментної суміші для обробки насіння |                    |
|---------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------|--------------------|
|                                       |                                   |                                     | г/200 г насіння                                          | % від маси насіння |
| Протолад + Целюлад                    | 3:7                               | 5971 : 8400                         | 1,2                                                      | 0,6                |
| Протолад + Целюлад                    | 7:3                               | 13931 : 3600                        | 1,2                                                      | 0,6                |
| Алкалаза FG + Пентопан 500 BG         | 7:3                               | 2,0 : 972                           | 1,2                                                      | 0,6                |
| Нейтраза + Пентопан                   | 7:3                               | 0,7 : 972                           | 1,2                                                      | 0,6                |

|                                  |       |                          |     |     |
|----------------------------------|-------|--------------------------|-----|-----|
| 500 BG                           |       |                          |     |     |
| Флавозим + Пентопан<br>500 BG    | 7:3   | 420 : 972                | 1,2 | 0,6 |
| Пеніцилопепсин +<br>Целюлад      | 7:3   | 21 : 1800                | 0,6 | 0,3 |
| Пеніцилопепсин +<br>Целюлад      | 7:3   | 42 : 3600                | 1,2 | 0,6 |
| Пеніцилопепсин +<br>Целюлад      | 7:3   | 84 : 7200                | 2,4 | 1,2 |
| Пеніцилопепсин +<br>Целюлад      | 7:3   | 126 : 10800              | 3,6 | 1,8 |
| Пеніцилопепсин +<br>Целюлад      | 7:3   | 168 : 14400              | 4,8 | 2,4 |
| Пепсин + Віскозим +<br>пектиназа | 1:1:1 | 3000000 :<br>120 : 3800  | 3,6 | 1,8 |
| Пепсин + целюлаза +<br>пектиназа | 1:1:1 | 3000000 :<br>1200 : 3800 | 3,6 | 1,8 |
| Папаїн + Віскозим +<br>пектиназа | 1:1:1 | 2520 : 120 :<br>3800     | 3,6 | 1,8 |
| Папаїн + целюлаза +<br>пектиназа | 1:1:1 | 2520 : 1200<br>: 3800    | 3,6 | 1,8 |

### **2.2.2. Визначення кількості «зруйнованих» клітин у гарбузовій меззі методом «миттєвого збовтування».**

Для визначення кількості «зруйнованих» клітин наважку мезги приблизно 10 г поміщали в конічну колбу, додавали 100-200 см<sup>3</sup> петролейного ефіру або н-гексану і вміст колби збовтували протягом 3 с (точно), потім колбу залишали у спокої на 10 с (точно), після чого ефірний розчин олії швидко і обережно переливали в іншу конічну колбу. Отриманий таким чином розчин відфільтрували у зважену конічну колбу. Фільтр промивали декількома порціями розчинника, після чого розчинник зі зваженої колби відганяли і одержану олію висушували до постійної маси. В іншій наважці тієї ж проби мезги одночасно визначали олійність методом екстракції в апараті Сокслета. Масова частка олії, вилученої при миттєвому збовтуванні, виражена у відсотках до її загального вмісту і відповідає кількості «зруйнованих» клітин [99].

Кількість екстрагованої олії, визначену методом «миттєвого збовтування», розраховували за рівнянням (1):

$$a_1 = \frac{m_1 \cdot 100 \%}{m_2} \quad (2.1)$$

де  $m_1$  - маса отриманої олії в колбі після «миттєвого збовтування» (г);  
 $m_2$  - маса наважки мезги (г).

Кількість «зруйнованих» клітин (%) розраховували за допомогою рівняння (2):

$$x = \frac{a_1 \cdot 100 \%}{a_2} \quad (2.2)$$

де  $a_2$  - олійність мезги, визначена методом екстракції в апараті Сокслета (%).

За результатами трьох повторних експериментів було розраховано середнє значення та стандартне відхилення.

### **2.2.3. Методика проведення пресування олійного матеріалу.**

Вилучення олії із насіння гарбуза звичайного пресовим методом проводили за допомогою лабораторного шнекового пресу «Маслячок» ПШУ-4. Пресування проводили за температури  $(80 \pm 20) ^\circ\text{C}$ , в залежності від виду олійного матеріалу та способу його попередньої обробки. Вилучену олію зважували та визначали олії у відсотках до маси олії в насінні.

Зразки насіння гарбуза голонасінного, оброблені ферментною сумішшю пепсин+Віскозим+пектиназа, пресували на лабораторному шнековому пресі при  $100\text{--}125 ^\circ\text{C}$  і діаметрі отвору сопла 6,0 мм.

Вихід олії в перерахунку на масу насіння розраховували за рівнянням (1). Вихід олії від загального вмісту олії в насінні гарбуза розраховували за рівнянням (2).

### **2.2.4. Методика проведення повного факторного експерименту.**

Для визначення оптимальних параметрів підготовки олійного насіння до пресового вилучення з нього олії було створено математичну модель цього процесу за ортогональним центральним-композиційним планом другого

порядку трирівневого повного двохфакторного експерименту (трирівневий план Коно) [100].

Загальну кількість дослідів ( $N$ ) для плану Коно у матриці планування визначено за рівнянням (3):

$$N = 3^2, \quad (2.3)$$

де 3 – кількість рівнів,

2 – кількість факторів

Перехід до безрозмірної системи координат проведено за рівнянням (2.4):

$$x_{ji} = \frac{X_j - X_j^0}{h}, \quad (2.4)$$

де  $X_j$  – значення  $j$ -го фактора  $i$ -го експерименті (технологічний параметр – концентрація ферментної суміші, %; кількість внесеної з ферментом води, %);

$X_j^0$  – значення  $j$ -го фактора на основному (нульовому) рівні;

$h$  – крок варіювання фактора.

$$X_j^0 = \frac{X_j^{max} + X_j^{min}}{2}, \quad (2.5)$$

$$h = \frac{X_j^{max} - X_j^{min}}{2}, \quad (2.6)$$

де  $X_j^{max}$  – максимальне значення  $j$ -го фактору;

$X_j^{min}$  – мінімальне значення  $j$ -го фактору;

$j$  – номер фактору,  $j=1;2\dots n$ .

Поліном другого порядку містить доданки, що враховують головні лінійні ефекти, ефекти парних взаємодій, а також квадратичні ефекти. При побудові плану другого порядку, план повного факторного експерименту використовують лише як його складову частину, а саме як ядро плану.

Ядро ортогонального центрально-композиційного плану другого порядку доповнюється точками, координати яких вибирають, виходячи з умов симетрії й ортогональності, а саме – парами симетричних точок, розташованих на координатних осях на деякій відстані  $\alpha$  від центра плану (зіркові точки), а також точкою в центрі плану (нульова точка). Число  $\alpha$  називається зірковим плечем.

Розташування експериментальних точок в трирівневому плані Коно для повного двохфакторного експерименту зображено на Рис. 2.1. Кількість  $i$ -х дослідів в такому плані дорівнює 9, а обидва фактори ( $x_{1i}$ ,  $x_{2i}$ ) варіюються на трьох рівнях (-1; 0; +1) (Таблиця 2.2).

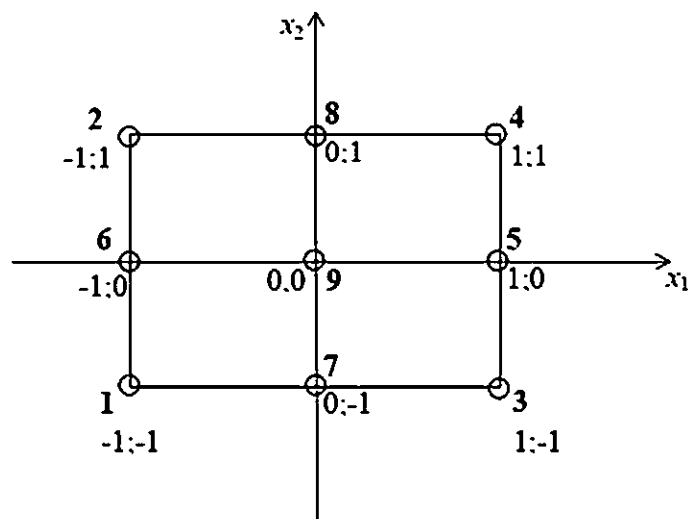


Рис. 2.1. Зображення розташування експериментальних точок для кодovаних (безрозмірних) факторів у трирівневому плані Коно

Таблиця 2.2

Трирівневий план Коно для повного двохфакторного експерименту

| $i$      | 1  | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9 |
|----------|----|----|----|----|----|----|----|----|---|
| $x_{1i}$ | -1 | -1 | +1 | +1 | -1 | +1 | 0  | 0  | 0 |
| $x_{2i}$ | -1 | +1 | -1 | +1 | 0  | 0  | -1 | +1 | 0 |

Матриці планів другого порядку симетричні й ортогональні, але не мають властивості нормування. Введення фіктивних факторів  $x'_{1i} = x_{1i}^2$  та  $x'_{2i} = x_{2i}^2$  порушує симетрію й ортогональність матриці, тому що такі фіктивні фактори позитивні. Для забезпечення симетричності і ортогональності плану, квадратичні ефекти враховуються за допомогою введення поправки  $\phi$  і фіктивних факторів  $x_{ji}^2 - \phi$ , де  $\phi$  – позитивне постійне число, яке називається квадратичною поправкою. Значення поправки  $\phi$  і зіркового плеча  $\alpha$  однозначно визначають виходячи з умов симетричності й ортогональності плану. Стовпці  $x'_{1i}$  й  $x'_{2i}$  взаємно ортогональні зі стовпцями  $x_{1i}$ ,  $x_{2i}$  й  $x_{1i} x_{2i}$  при будь-яких значеннях  $\alpha$  і  $\phi$ , а ортогональність цих стовпців один з одним і зі стовпцем  $x_{0i}$  (тобто їхня симетрія) спостерігається лише при конкретних значеннях  $\alpha$  і  $\phi$ , які можуть бути отримані шляхом розв'язання системи двох рівнянь.

Складання рівняння симетрії зводиться до прирівнювання до нуля суми елементів стовпців  $x'_{1i}$  або  $x'_{2i}$ :

$$4(1 - \phi) + 2(\alpha^2 - \phi) - 3\phi = 0. \quad (2.7)$$

Складання рівняння ортогональності зводиться до прирівнювання до нуля суми попарних добутків елементів стовпців  $x'_{1i}$  й  $x'_{2i}$ :

$$4(1 - \phi)^2 + 4\phi(\alpha^2 - \phi) + \phi^2 = 0. \quad (2.8)$$

Розв'язання зазначеної системи рівнянь дає такі значення:

$$\alpha = 1, \phi = 2/3.$$

У таблиці 2.3 наведено матрицю ортогонального центрально-композиційного плану двохфакторного експерименту з урахуванням фіктивних факторів  $x'_{1i} = x_{1i}^2 - \phi$  й  $x'_{2i} = x_{2i}^2 - \phi$ .

Матриця ортогонального центрально-композиційного плану для  
двохфакторного експерименту

| $i$ | $x_0$ | $x_1$ | $x_2$ | $x_1x_2$ | $x'_1 = x_1^2 - \varphi$ | $x'_2 = x_2^2 - \varphi$ |
|-----|-------|-------|-------|----------|--------------------------|--------------------------|
| 1   | +1    | -1    | -1    | +1       | 1/3                      | 1/3                      |
| 2   | +1    | -1    | +1    | -1       | 1/3                      | 1/3                      |
| 3   | +1    | +1    | -1    | -1       | 1/3                      | 1/3                      |
| 4   | +1    | +1    | +1    | +1       | 1/3                      | 1/3                      |
| 5   | +1    | -1    | 0     | 0        | 1/3                      | -2/3                     |
| 6   | +1    | +1    | 0     | 0        | 1/3                      | -2/3                     |
| 7   | +1    | 0     | -1    | 0        | -2/3                     | 1/3                      |
| 8   | +1    | 0     | +1    | 0        | -2/3                     | 1/3                      |
| 9   | +1    | 0     | 0     | 0        | -2/3                     | -2/3                     |

З огляду на ортогональність матриці планування шляхом введення квадратичних поправок  $\varphi$  і фіктивних факторів  $x_{ji}^2 - \varphi$ , визначення коефіцієнтів рівняння регресії виконується за формулами:

$$b_j = \sum_{i=1}^n (Yx_j)_i / \sum_{i=1}^n (x_j)_i^2 \quad (2.9)$$

$$b_0 = \frac{1}{9} \sum_{i=1}^9 Y_i \quad (2.10)$$

$$b_1 = \frac{1}{6} \sum_{i=1}^9 Y_i x_{1i} \quad (2.11)$$

$$b_2 = \frac{1}{6} \sum_{i=1}^9 Y_i x_{2i} \quad (2.12)$$

$$b_{12} = \frac{1}{4} \sum_{i=1}^9 Y_i x_{1i} x_{2i} \quad (2.13)$$

$$b_{11} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^9 Y_i (x_{1i}^2 - \varphi) \quad (2.14)$$

$$b_{22} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^9 Y_i (x_{2i}^2 - \varphi) \quad (2.15)$$

де  $b_j$  – коефіцієнт рівняння регресії;

$Y_i$  – середнє арифметичне значення результатів паралельних дослідів ( $Y_{ji}$ ) в  $i$ -му експерименті (параметр оптимізації – вихід пресової олії, %).

$$Y_i = \frac{1}{u} \sum_{j=1}^u Y_{ji} \quad (2.16)$$

де  $u$  – кількість паралельних дослідів (коефіцієнт дублювання).

Рівняння регресії з урахуванням квадратичних ефектів має вигляд:

$$\hat{y} = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_{12} x_1 x_2 + b_{11} (x_{1i}^2 - \varphi) + b_{22} (x_{2i}^2 - \varphi) \quad (2.17)$$

де  $x_n$  - значення фактору;

$\hat{y}$  - функція відгуку.

Визначивши, що

$$b'_0 = b_0 - \varphi(b_{11} - b_{22}), \quad (2.18)$$

одержимо:

$$\hat{y} = b'_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_{12} x_1 x_2 + b_{11} x_{1i}^2 + b_{22} x_{2i}^2. \quad (2.19)$$

[100].

Оцінки дисперсій дослідів  $S_i^2$  (рядкові дисперсії) визначаються для кожного рядка плану за формулою:

$$S_i^2 = \frac{1}{u-1} \sum_{j=1}^u (Y_{ji} - Y_i)^2 \quad (2.20)$$

Перевірка однорідності оцінок рядкових дисперсій здійснюється за критерієм Кохрена:

$$G_p = S_{max}^2 / \sum_{i=1}^n S_i^2 \quad (2.21)$$

де  $S_{max}^2$  – найбільше з розрахункових значень оцінок рядкових дисперсій;

$\sum_{i=1}^n S_i^2$  – сума оцінок рядкових дисперсій;

$n$  – кількість експериментів (рядків) плану,  $n = 9$ .

Одержане розрахункове значення критерію Кохрена  $G_p$  порівнюється з його табличним значенням  $G$ . Якщо  $G_p < G$ , гіпотеза про однорідність оцінок дисперсій приймається. Це вказує на рівну точність фіксації результатів дослідів, а також на їхню відтворюваність.

Мірою точності експерименту є дисперсія відтворюваності  $S_y^2$ , що при тій самій кількості паралельних дослідів у всьому плані визначається за формулою:

$$S_y^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S_i^2 \quad (2.22)$$

Визначивши величину дисперсії відтворюваності, можна оцінити статистичну значущість експерименту. Вважається, що експеримент містить мало інформації, якщо різниця  $Y_{max} - Y_{min}$  мала. У цьому випадку експеримент є статистично незначущим. Гіпотеза статистичної значущості

експерименту перевіряється за критерієм Стюдента. Розрахункове значення цього критерію  $t_p$  визначається за формулою:

$$t_p = \frac{Y_{max} - Y_{min}}{\sqrt{2 \cdot S_y^2 / u}} \quad (2.23)$$

Табличне значення критерію Стюдента  $t$  визначається за рівнем значущості  $q = 0,05$  і числом степенів вільності  $f = 2u$ . При  $t_p < t$  гіпотеза приймається статистично значущою.

Для оцінки статистичної значущості коефіцієнтів рівняння регресії визначаються їх дисперсії за формулами:

$$S^2(b_j) = \frac{1}{n \cdot u} \sum_{i=1}^n S_i^2 x_{ji}^2 / \sum_{i=1}^n x_{ji}^2 \quad (2.24)$$

$$S^2(b_0) = \frac{1}{9 \cdot u} \sum_{i=1}^9 S_i^2 \quad (2.25)$$

$$S^2(b_1) = \frac{1}{6 \cdot u} \sum_{i=1}^9 S_i^2 x_{1i}^2 \quad (2.26)$$

$$S^2(b_2) = \frac{1}{6 \cdot u} \sum_{i=1}^9 S_i^2 x_{2i}^2 \quad (2.27)$$

$$S^2(b_{12}) = \frac{1}{4 \cdot u} \sum_{i=1}^9 S_i^2 (x_{1i} \cdot x_{2i})^2 \quad (2.28)$$

$$S^2(b_{11}) = \frac{1}{2 \cdot u} \sum_{i=1}^9 S_i^2 (x_{1i}^2 - \varphi)^2 \quad (2.29)$$

$$S^2(b_{22}) = \frac{1}{2 \cdot u} \sum_{i=1}^9 S_i^2 (x_{2i}^2 - \varphi)^2 \quad (2.30)$$

Оскільки, дійсне значення коефіцієнта  $b_j$  лежить в інтервалі  $[b_j - \Delta b_j, b_j + \Delta b_j]$  з деякою імовірністю  $P$ , величину  $\Delta b_j$  вважають «допуском» на коефіцієнти рівняння регресії і розраховують за формулою:

$$\Delta b_j = t \cdot \sqrt{S^2(b_j)} \quad (2.31)$$

При  $|b_j| < \Delta b_j$ , коефіцієнт  $b_j$  приймається з ймовірністю  $P$  статистично незначущим, а параметр  $X_j$ , не впливає на результат і його можна виключити, тобто, припустити, що  $b_j = 0$ .

Перевірка адекватності рівняння регресії (моделі) здійснюється за критерієм Фішера, табличне значення якого  $F$  знаходиться за числом степенів вільності  $f_1 = n - (m + 1)$  і  $f_2 = n(u - 1)$ , де  $m$  – кількість значущих коефіцієнтів у рівнянні регресії, а розрахункове значення критерію Фішера  $F_p$  визначається за формулою:

$$F_p = \frac{S_a^2}{S_y^2} \quad (2.32)$$

де  $S_a^2$  – дисперсія адекватності:

$$S_a^2 = \frac{u}{n - (m + 1)} \sum_{i=1}^n (Y_i - \hat{y}_i)^2$$

(2.33)

де  $\hat{y}_i$  – обчислене за моделлю значення відгуку в  $i$ -й точці плану.

При  $F_p < F$  гіпотеза про адекватність одержаної математичної моделі приймається з імовірністю  $P$  [100,101].

Якщо гіпотеза про адекватність отриманого рівняння регресії приймається, то це надає можливість заміни в ньому нормованих змінних виду  $x_{1i}$  та  $x_{2i}$  на натуральні змінні  $X_1$  та  $X_2$ , використовуючи формулу (2.4). Після процедури заміни  $x_{ji}$  на  $X_j$  та спрощення членів рівняння (розкривання дужок, зведення подібних доданків тощо), отримується модель у формі поліному 2-го порядку залежності дослідженої функції [101].

Побудову графічного зображення одержаної моделі та її пошук локального екстремуму було виконано у середовищі програми Mathcad.

#### **2.2.5. Методика дослідження впливу ферментативної обробки на мікроструктуру гарбузового насіння**

Мікротомні зрізи (товщиною 20 мкм) насіння гарбуза голонасінного обробляли ферментами пепсин, Віскозим, та пектиназа в планшеті з мікролунками з кожним ферментом окремо (в кожній лунці - 0,6 % ферменту в 1 мл фосфатного буфера з рН 5,5), а також їх сумішшю (1,8 % суміші в 1 мл буфера). Усі зразки витримували 2 год. при 48-52 °С в лунках планшету, після чого переносили на предметні скельця та фіксували шляхом висушування у сушильній шафі при 65 °С протягом 1 год. Далі зрізи фарбували барвником Nuclear Fast Red та досліджували методом світлової мікроскопії при збільшенні 100х за допомогою мікроскопу Leica DM750 з камерою Leica ICC50 та програмним забезпеченням Leica Application Suiteversion 3.0.0.

#### **2.2.6. Методи визначення показників якості олійного насіння, мезги та пресової макухи.**

**Визначення вологості олійного матеріалу.** Вологість олійного матеріалу визначили згідно ГОСТ-10856-96 методом висушування до постійної маси [102].

**Визначення олійності олійного матеріалу.** Визначення олійності олійного матеріалу проводили методом екстракції в апараті Соксклета NZ 45/40 з використанням петролейного ефіру. Тривалість екстракції 8 годин.

#### **2.2.7. Методи визначення показників якості та антиоксидантної здатності олій.**

**Кислотне число** одержаної гарбузової олії визначали згідно ДСТУ EN ISO 660:2019 «Жири тваринні і рослинні та олії. Визначення кислотного числа та кислотності» [103].

**Пероксидне число** пресової гарбузової олії визначали згідно ДСТУ 4570:2006 «Жири рослинні та олії. Метод визначання пероксидного числа». [104].

**Анізидинове число** гарбузової олії визначали згідно ДСТУ EN ISO 6885:2019 «Жири тваринні і рослинні та олії. Визначення анізидинового числа» [105].

**Визначення антиоксидантної активності** одержаної гарбузової олії проводили методом гасіння радикалів 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилу (DPPH). [106] Для реакції використовували розчин 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилу концентрацією 3 мг/100 мл в етилацетаті, який мав значення оптичної густини на довжині хвилі 520 нм в межах 0,7-0,9.

Для приготування реакційної суміші до 100 мг олії додавали 15 мл розчину DPPH в етилацетаті, ретельно перемішували та визначали початкове значення оптичної густини реакційної суміші на довжині хвилі 520 нм ( $D_0$ ). Реакційну суміш витримували без доступу світла та визначали оптичну густину на 520 нм ( $D_1$ ) через заданий інтервал часу. Антиоксидантну активність розраховували за зміною оптичної густини протягом 30 хвилин [106]:

$$A = \left[ 1 - \frac{D_1}{D_0} \right] \cdot 100 \quad (2.34)$$

### 2.2.8. Метод визначення жирнокислотного складу олії.

Визначення жирнокислотного складу пресової гарбузової олії проводили методом газорідинної хроматографії метилових ефірів жирних кислот [107]. Для приготування метилових ефірів жирних кислот 100 мг кожного зразка олії розчиняли в 2 мл розчину (0,5 г/л) бутилового гідрокситолуолу (БГТ) у гептані. Потім додавали 100 мкл розчину натрію в метанолі (46 мг/мл), розчин перемішували 2 хв і витримували 15 хв. Додавали від 1 до 2 г гідросульфату натрію. Зразки фільтрували через безводний сульфат натрію, а потім додавали 2 мл розчину БГТ гептану. Отриманий розчин ще раз фільтрували через мембранний целюлозний фільтр 0,45 мкм і фільтр промивали 1 мл того ж розчинника. Два фільтрати об'єднували і розчин використовували для аналізу. Отримані метилові ефіри жирних кислот аналізували на газовому хроматографі Hewlett Packard модель HP 6890 з капілярною колонкою HP-88 (88%-ціанопропіларил-полісилоксан; 100 м × 0,25 мм; товщина плівки 0,25 мкм (Agilent Technologies)). Температура інжектора становила 280 °С, детектора – 290 °С. Температурні кроки та швидкості нагрівання були наступними: утримання температури при 60°C протягом 4 хв; нагрівання до 150°C зі швидкістю 4°C/хв, витримка при 10 хв; нагрівання до 180°C – 3°C/хв, витримка – 5 хв; нагрівання до 190°C – 3°C/хв, витримка – 2 хв, нагрівання до 230°C – 3°C/хв, витримка – 2 хв; нагрівання до 260°C зі швидкістю 4°C/хв, витримка – 2 хв. Швидкість потоку газу-носія становила 1,2 мл/хв, об'єм проби 1,0 мкл. Ідентифікацію жирних кислот проводили шляхом порівняння тривалості утримання зі стандартною сумішшю метилових ефірів жирних кислот (37-компонентна суміш FAME, SUPELCO). Одержані результати являють собою середнє значення та стандартне відхилення трьох аналітичних повторів.

### 2.2.9. Метод визначення складу стеролів олії.

Аналіз складу фітостеролів олії проводили відповідно до ISO 6799:1991 [108]. До наважки олії масою 100 мг додавали 10 мл стандартного розчину бетуліну і 100 мл спиртового розчину КОН і кип'ятили на водяній бані 1 год. Після охолодження зразок переносили в ділильну лійку, додаючи 200 мл дистильованої води і 100 мл діетилового ефіру, енергійно струшували і відокремлювали верхній шар ефіру. Промивання повторювали 3 рази. Об'єднані ефірні екстракти переносили в іншу ділильну лійку, додаючи 100 мл дистильованої води, і обережно струшували. Після розшарування водний шар зливали і промивання повторювали 3 рази. Верхній ефірний розчин фільтрували через шар сульфату натрію. Розчинник випарювали на ротаційному випарному апараті з отриманням 1 мл розчину. Розчин наносили мікросприцом на підготовлену кремнієву пластину і поміщали в резервуар проявника. Пластинку видаляли після перегонки і давали розчиннику випаруватися. Кремній, що містить стерінову фракцію, збирали мікроспателем. Кремній поміщали в конічну колбу і кип'ятили з 5 мл діетилового ефіру на водяній бані протягом 15 хв. Розчин охолоджували і фільтрували через паперовий фільтр. Кремній з фільтрувального паперу повторно екстрагували і фільтрували ще двічі. Залишок розчиняли в мінімальній кількості розчинника для прояву та аналізували газовою хроматографією. Вимірювання проводили на газовому хроматографі CP-3800 (Varian), оснащеному полум'яно-іонізаційним детектором, електронною системою контролю потоку газу, універсальним інжектором для введення проб у роздільному та безроздільному режимах, автосамплером (CP-8410 Varian). Капілярну колонку MET-Біодизель із вбудованою попередньою колонкою (14 м × 0,53 мм; товщина плівки 0,16 мкм) використовували за таких умов: швидкість потоку газу-носія – 5,0 мл/хв; коефіцієнт поділу потоку – 1:10; температура випарника – 360 °С; температура детектора – 390 °С; температурний режим колонки: поступовий нагрів від 160 °С до 340 °С.

Об'єм введеного зразка становив 1 мкл. Одержані результати являють собою середнє значення та стандартне відхилення трьох аналітичних повторів.

#### **2.2.10. Метод визначення ізомерного складу токоферолів олії.**

Визначення ізомерного складу токоферолів пресової гарбузової олії здійснювали методом ВЕРХ з використанням колонки з оберненою фазою [109]. До наважки олії у круглодонній колбі масою 2 г додавали 50 см<sup>3</sup> метилового спирту, 0,25 г аскорбінової кислоти, 5 см<sup>3</sup> з 50 г/100 см<sup>3</sup> розчину гідроксиду калію і проводили омилення на водяній бані за температури 80 - 100 °С протягом 15 - 40 хвилин.

Неомилені речовини екстрагували тричі диетиловим ефіром. Об'єднаний екстракт промивали дистильованою водою і висушували сульфатом натрію протягом 30 хв. Після цього ефір відганяли на роторному випарювачі при температурі 40-50 °С, а залишок розчиняли у метиловому спирті й кількісно переносили у мірну колбу місткістю 10 см<sup>3</sup>. Доводили об'єм розчину метанолом до мітки, закривали і перемішували. Отриманий екстракт використовували для хроматографічного визначення вітамінів.

Для дослідження використовували рідинний хроматограф Hewlett-Packard HP 1100 з флуоресцентним (довжина хвилі збудження 295 нм, поглинання 330 нм) та діодно-матричним детекторами, обернено-фазовою колонкою Hypersil MOS діаметром 2,1мм, довжиною 200 мм. Умови хроматографування: мобільна фаза ацетонітрил : вода (70:80), швидкість потоку 0,4 см<sup>3</sup>/хв, температура термостату 40 °С.

Реєстрували не менше п'яти хроматограм кожного розчину. З отриманих значень площ хроматографічних піків знаходили середнє арифметичне (розходження між отриманими величинами не повинно перевищувати 10 %). За одержаними даними будували градувальні залежності площі піка від концентрації компонента. Ідентифікували компоненти за тривалістю утримання на хроматограмах контрольних розчинів. Кількісне визначення проводили, визначаючи площі піків.

**РОЗДІЛ 3**  
**ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КОМПОЗИЦІЙНОГО СКЛАДУ СУМІШІ**  
**ФЕРМЕНТНИХ ПРЕПАРАТІВ ТА ПАРАМЕТРІВ ПОПЕРЕДНЬОЇ**  
**ФЕРМЕНТАТИВНОЇ ОБРОБКИ ГАРБУЗОВОГО НАСІННЯ НА**  
**ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРЕСОВОГО ВИЛУЧЕННЯ ОЛІЇ.**  
**ОПТИМІЗАЦІЯ ПАРАМЕТРІВ ПРОЦЕСУ**

З огляду на багатокomпонентний склад насінневих клітин, для максимального вивільнення олії важливим є руйнування як полісахаридів, які є компонентами стінок клітин, так і протеїнів, які є складовими мембран олеосом та цитоплазматичної мембрани. Тому доцільним є використання не якогось одного окремого ферменту з односторонньою дією, а суміші ферментів з різними типами активності, зокрема з протеолітичною, целюлолітичною та геміцелюлолітичною активністю.

Важливим фактором підготовки насіння до вилучення олії є волога, яка необхідна не лише для волого-теплової обробки насіння, але й без якої неможлива реакція гідролізу компонентів клітин насіння під час його обробки ферментами. Водночас надмірна кількість внесеної з ферментами вологи є вкрай небажаною, оскільки вона значно збільшить витрати часу та енергії на висушування матеріалу, аби довести його до оптимальної для пресування значення вологості. Через це процес стане технологічно складнішим і економічно невигідним. Крім цього, тривалий контакт олійного матеріалу з вільною вологою може викликати процеси гідролізу олії, що негативно впливає на якість олії.

Іншим важливим параметром попередньої ферментативної обробки насіння є кількість доданої ферментної суміші. Відомо, що зі збільшенням концентрації ферменту швидкість і глибина проходження реакції, яку він каталізує, зростає. Однак ця закономірність зберігається лише до моменту зв'язування всіх відповідних хімічних зв'язків субстрату із ферментом, після

чого збільшення кількості ферменту вже не буде ефективним [110]. До того ж надмірне підвищення концентрації ферментів є економічно не вигідним у зв'язку з їх високою вартістю. Надлишкова кількість ферменту також може призвести до гідролізу полісахаридів та утворення вільних редукуючих цукрів, які будуть карамелізуватися під час сушіння олійного матеріалу безпосередньо перед пресуванням і можуть перешкоджати вилученню олії, що, відповідно, призведе до зменшення її виходу. Крім того, надмірне збільшення концентрації ферментів може призвести до погіршення органолептичних властивостей готового продукту, спричинити виникнення сторонніх запахів і гіркоти.

### **3.1. Дослідження впливу рН середовища та співвідношення протеолітичних і целюлолітичних ферментів у ферментній суміші на ефективність пресового вилучення олії з гарбузового насіння**

Гідролітичні ферменти є потужними каталізаторами біохімічних реакцій розпаду різноманітних складних органічних сполук, зокрема, препарати целюлолітичної дії каталізують руйнування целюлози, яка є основним структурним компонентом стінок клітин олійного насіння. Препарати протеолітичної дії зумовлюють розпад білкових сполук, які, зокрема, є структурними компонентами клітинних мембран. Крім того, під час ферментації руйнуються комплексні сполуки, утворені полісахаридами та токоферолами насіння, що спричиняє збагачення олії токоферолами [94]. Таким чином, обробка гідролітичними ферментами у поєднанні з традиційною технологією пресування може інтенсифікувати дію механічних та фізичних сил, спрямованих на максимальне руйнування структурних компонентів матеріалу та вивільнення з нього олії, а також підвищити біологічну цінність одержаної олії за рахунок збільшення вмісту в ній токоферолів.

Під час дослідження впливу рН середовища та співвідношення протеолітичних і целюлолітичних ферментів у ферментній суміші при обробці олійного матеріалу на вихід пресової олії та вміст у ній токоферолів в якості ферментних препаратів використовували суміш нейтральної протеази і целюлази (рН розчину 7,2) та суміш кислої протеази і целюлази (рН розчину 5,2). Дослідження проводились у відповідності до блок-схеми №1 (Рис. 3.1).



Рис. 3.1. Блок-схема організації експериментальних досліджень №1

Одержані результати (Таблиця 3.1) свідчать, що в цілому вплив суміші кислої протеази і целюлази при значенні рН розчину 5,2 на вихід пресової олії суттєво вищий порівняно із дією суміші нейтральної протеази і целюлази.

Таблиця 3.1

Вплив співвідношення протеолітичних і целюлолітичних ферментів у ферментній суміші та рН середовища під час попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння на вихід пресової олії та вміст у ній токоферолів

| Технологічні параметри процесу                         |     | Кількісний вихід олії, %, в пер. на олійність насіння | Вміст токоферолів у одержаній олії, мкг/г | Висновки                                                                                                                                            |
|--------------------------------------------------------|-----|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Співвідношення протеолітичний: целюлолітичний препарат | рН  |                                                       |                                           |                                                                                                                                                     |
| 1                                                      | 2   | 3                                                     | 4                                         | 5                                                                                                                                                   |
| 3:7                                                    | 5,2 | 55,2                                                  | 188,25                                    | Зниження частки протеолітичного препарату супроводжується деяким зменшенням кількості отриманої олії та вмісту в ній токоферолів                    |
| 7:3                                                    | 5,2 | 60,3                                                  | 208,53                                    | Співвідношення ферментних препаратів та значення рН оптимальні, кількісний вихід олії та вміст у ній токоферолів найбільші                          |
| —                                                      | 5,2 | 49,8                                                  | 123,99                                    | Контрольний зразок для порівняння (без ферменту)                                                                                                    |
| 3:7                                                    | 7,2 | 30,9                                                  | 153,58                                    | Зниження частки протеолітичного препарату та підвищення рН супроводжується значним зменшенням кількості отриманої олії та деяким зниженням вмісту в |

|     |     |      |        |                                                                                                                                   |
|-----|-----|------|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     |     |      |        | ній токоферолів                                                                                                                   |
| 7:3 | 7,2 | 36,2 | 128,64 | Співвідношення ферментних препаратів оптимальне, рН підвищене. Вихід олії дещо зменшений, значно знизився вміст у ній токоферолів |
| —   | 7,2 | 23,7 | 125,87 | Контрольний зразок для порівняння (без ферменту)                                                                                  |

При співвідношенні протеолітичних та целюлолітичних препаратів 7:3, відповідно, вихід олії значно вищий порівняно з контрольними зразками як у кислому, так і в нейтральному середовищі. Наведені дані (Таблиця 3.1) свідчать, що максимальний кількісний вихід олії та максимальний вміст у ній токоферолів, а саме 60,3 % та 208,53 мкг/г відповідно, можна одержати, використовуючи ферментативну обробку м'ятки насіння гарбуза звичайного кислою протеазою та целюлазою у співвідношенні 7:3, відповідно, при рН 5,2. Обробка гарбузового насіння за таких умов дозволила збільшити кількісний вихід олії на 10,5 % та підвищити її біологічну цінність за рахунок збільшення в ній вмісту токоферолів на 84,5 мкг/г (68,5 %).

Обробка м'ятки нейтральною протеазою та целюлазою при рН 7,0-7,2 збільшила вихід олії порівняно з контрольним дослідом при тому самому рН, однак вихід олії за цих умов був значно нижчим, ніж при обробці кислою протеазою та целюлазою при рН 5,0-5,2. Отже, найбільш раціональною є обробка кислою протеазою та целюлазою у співвідношенні 7:3, відповідно, при рН 5,0-5,2.

### 3.2. Дослідження впливу композиційного складу суміші ферментних препаратів на ефективність пресового вилучення олії з гарбузового насіння

Під час дослідження впливу композиційного складу ферментної суміші при обробці олійного матеріалу на вихід пресової олії використовували водні розчини сумішей ферментних препаратів з протеолітичною та геміцелюлолітичною активністю, зокрема – Алкалаза FG+Пентопан 500 BG, Нейтраза+Пентопан 500 BG, та Флавозим+Пентопан 500 BG, взятих у співвідношенні 7:3 для кожної суміші відповідно, при рН 6,5, 6,2 та 5,2 відповідно. Дослідження проводились у відповідності до блок-схеми №2 (Рис. 3.2).

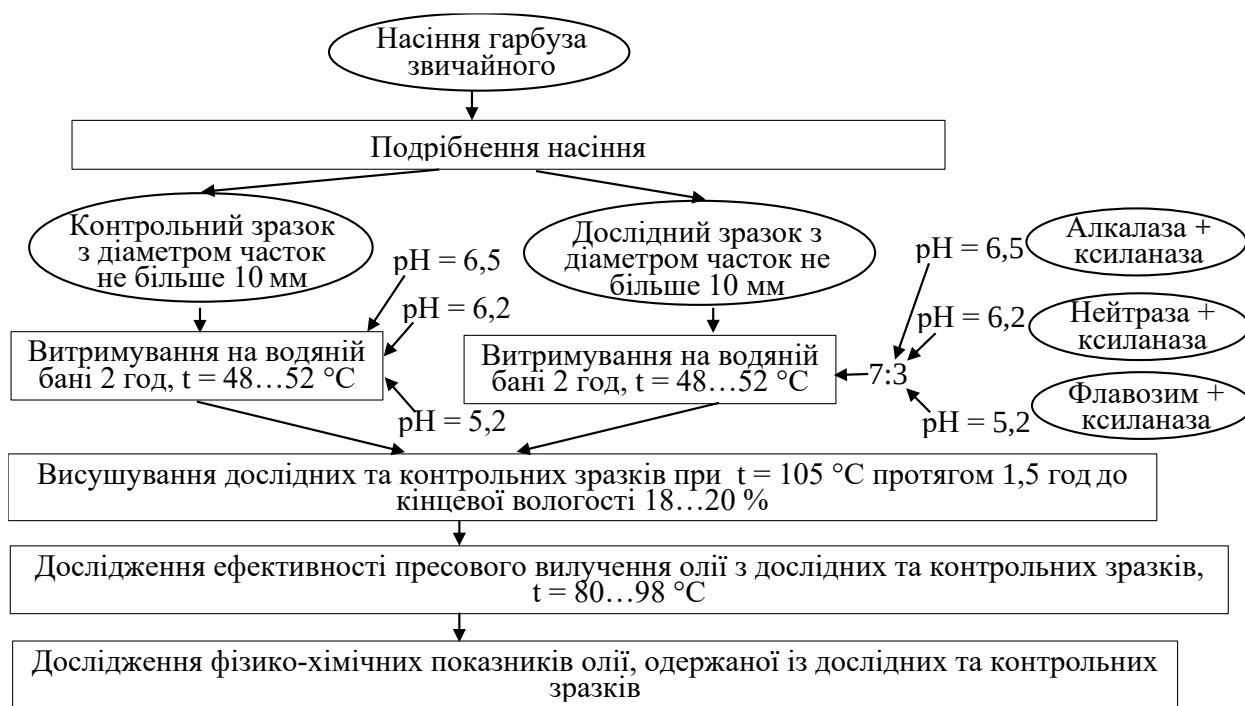


Рис. 3.2. Блок-схема організації експериментальних досліджень №2

Як свідчать одержані дані (Рис. 3.3.), пресовий вихід олії не високий (в межах від 4,4 до 15,1 %) для всіх зразків, як контрольних, так і оброблених ферментами, порівняно з результатами обробки гарбузового насіння ферментними сумішами нейтральна протеаза+целюлаза та кисла

протеаза+целюлаза. Низькі виходи олії в даному випадку можуть бути наслідком досить високого вмісту кінцевої вологості (18–20 %), при якому олійний матеріал подавався на пресування. В той же час, проведені дослідження показали, що вихід пресової олії з усіх зразків насіння гарбуза звичайного після попередньої ферментативної обробки вищий, порівняно зі зразками того самого насіння, обробленого у контрольних умовах. Збільшення виходу пресової олії внаслідок попередньої ферментативної обробки насіння коливається від 1,2 % до 10,7 %.

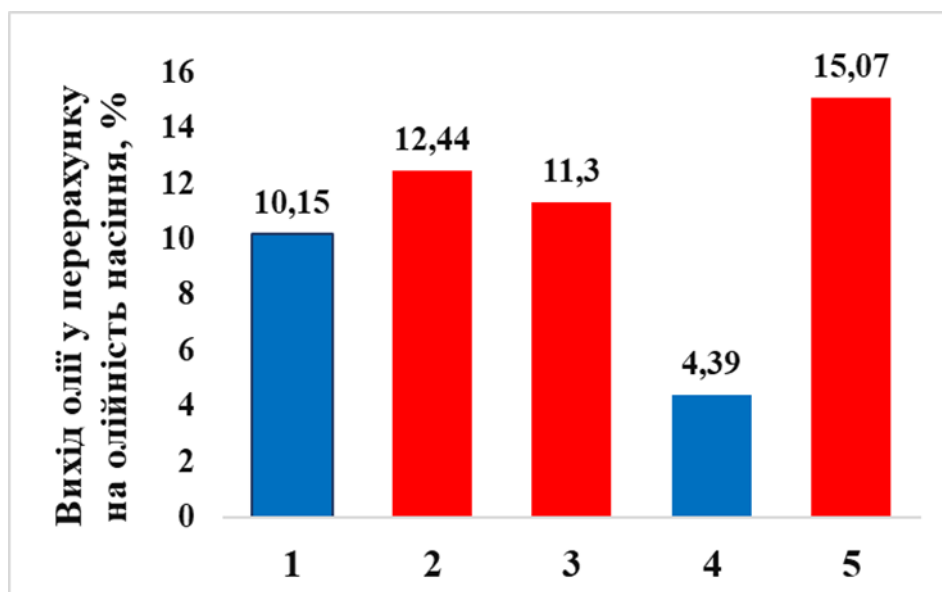


Рис. 3.3. Вихід олії зі зразків насіння гарбуза звичайного, оброблених за різних умов:

**1** – контрольний зразок, оброблений при рН 6,5; **2** – дослідний зразок, оброблений ферментною сумішю Алкалаза FG+Пентопан 500 BG при рН 6,5; **3** – дослідний зразок, оброблений ферментною сумішю Нейтраза+Пентопан 500 BG при рН 6,2; **4** – контрольний зразок, оброблений при рН 5,2; **5** – дослідний зразок, оброблений ферментною сумішю Флавозим+Пентопан 500 BG при рН 5,2

Найбільший вплив на ефективність пресового вилучення олії з гарбузового насіння мала його обробка ферментною сумішю Флавозим+Пентопан 500 BG при рН 5,2.

### 3.3. Дослідження впливу кількості ферментної суміші та кількості внесеної з ферментами води на ефективність пресового вилучення олії з гарбузового насіння

З метою визначення раціональних параметрів пресового вилучення гарбузової олії з використанням попередньої ферментативної обробки насіння гарбузів дослідження проводили при різних кількостях внесеної з ферментами води та при різних кількостях суміші ферментних препаратів із протеолітичною та целюлолітичною активністю (Пеніцилопепсин+Целюлад), взятих у співвідношенні 7:3, відповідно, при рН 5,2. Дослідження проводились у відповідності до блок-схеми №3 (Рис. 3.4).



Рис. 3.4. Блок-схема організації експериментальних досліджень №3

В результаті експерименту було виявлено, що найвищий вихід олії 65,6 % був досягнутий при загальній кількості доданої під час обробки ферментної суміші 0,6 % від маси зразка насіння та кількості внесеної з ферментами води 35 % (Таблиця 3.2).

Таблиця 3.2

Вплив кількості ферментної суміші та кількості внесеної з ферментами вологи під час попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння на вихід пресової олії

| Маса ферментної суміші для обробки насіння, % від маси насіння | Кількість внесеної з ферментами вологи, % | Вихід олії, % від вмісту олії в насінні |
|----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1                                                              | 2                                         | 3                                       |
| 0,3                                                            | 50                                        | 60,5 ± 0,1                              |
| 0,6                                                            | 50                                        | 63,0 ± 0,1                              |
| 1,2                                                            | 50                                        | 62,2 ± 0,1                              |
| 1,8                                                            | 50                                        | 62,6 ± 0,2                              |
| 2,4                                                            | 50                                        | 61,6 ± 0,1                              |
| 0,6                                                            | 35                                        | 65,6 ± 0,1                              |
| 1,2                                                            | 35                                        | 60,0 ± 0,1                              |
| 0,6                                                            | 25                                        | 62,8 ± 0,1                              |
| 1,2                                                            | 25                                        | 60,5 ± 0,2                              |
| 0,6                                                            | 15                                        | 60,4 ± 0,2                              |
| 1,2                                                            | 15                                        | 60,7 ± 0,1                              |
| 0                                                              | 50                                        | 59,9 ± 0,1                              |
| 0                                                              | 35                                        | 59,9 ± 0,1                              |
| 0                                                              | 25                                        | 60,1 ± 0,1                              |
| 0                                                              | 15                                        | 60,3 ± 0,2                              |

У багатьох дослідженнях, присвячених розробці технології попередньої ферментативної обробки перед пресуванням для насіння різних олійних культур, кількість доданої до субстрату вологи під час ферментативного гідролізу намагалися максимально скоротити, зокрема, до співвідношення субстрат : вода - 1:1, або до кількості вологи по відношенню до субстрату 45-50 % [17,94,111-116]. Одержані результати (Таблиця 3.2) свідчать, що при зменшенні кількості внесеної з ферментами вологи від 25 до 15 % вихід олії поступово знижується з 62,81 % до 60,41 %, відповідно, тоді як при підвищенні кількості доданої вологи від 35 до 50 % збільшення виходу олії не спостерігається. Дані результати узгоджуються із

опублікованими авторами роботи [97] щодо попередньої ферментативної обробки абрикосових кісточок пектолітичними та целюлолітичними ферментами проводили при кількості внесеної під час гідролізу води від 20 % до 32 %. Найбільше зростання виходу олії (2,53 %) було одержано при 23 % внесеної води по відношенню до маси субстрату. Автори роботи [117] здійснювали ферментативний гідроліз насіння борщівника ферментними препаратами Olivex та Celluclast при вмісті води від 20 % до 50 %. Найвищий вихід олії 85,5 % був виявлений при кількості доданої води 20 %. Під час ферментативної обробки насіння ріпаку, соняшнику, кунжуту, бавовни, коноплі, *Moringa oleifera* та *Moringa concanensis* було встановлено, що оптимальною для більшості з цих культур виявилася кількість внесеної води під час гідролізу в діапазоні між 35 та 45 % [118].

Як свідчать результати дослідження (Таблиця 3.2), найбільш раціональною є кількість внесеної ферментної суміші 0,6 %, при збільшенні чи зменшенні кількості доданих ферментів вихід олії поступово знижується. Аналогічно, під час попередньої ферментативної обробки перед пресуванням насіння ріпаку з використанням суміші ферментних препаратів Protolad та Celulad в кількості від 0,4 % до 1,4 % від маси субстрату найбільш оптимальною виявилась концентрація ферментів 0,4 %, вихід олії при цьому коливався в межах від 32,2 до 45,9 % в залежності від інших параметрів, таких як тривалість ферментації та вміст води перед пресуванням [113,114]. В іншому дослідженні попередню ферментативну обробку гарбузового насіння було здійснено із застосуванням концентрації ферментної суміші 0,6 % від маси насіння, одержаний вихід пресової олії становив 28,2 % [111].

### 3.4. Дослідження впливу кількості ферментної суміші та кількості внесеної з ферментами вологи на фізико-хімічні показники якості пресової гарбузової олії

Дослідження фізико-хімічних показників одержаної пресової олії (Таблиця 3.3) показали, що попередня ферментативна обробка гарбузового насіння не має істотного впливу на кислотність олії та вміст карбонільних сполук, визначений за значенням анізидинового числа.

Таблиця 3.3

Вплив кількості ферментної суміші та кількості внесеної з ферментами вологи під час попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння на фізико-хімічні показники якості пресової олії

| Маса ферментної суміші для обробки насіння, % від маси насіння | Кількість внесеної з ферментами вологи, % | Фізико-хімічні показники якості пресової олії |                                            |                   |
|----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------|
|                                                                |                                           | Кислотне число, мг КОН/г                      | Пероксидне число, ммоль $\frac{1}{2}$ O/кг | Анізидинове число |
| 0,3                                                            | 50                                        | $1,20 \pm 0,13$                               | $0,55 \pm 0,07$                            | $1,60 \pm 0,04$   |
| 0,6                                                            | 50                                        | $1,30 \pm 0,11$                               | $0,67 \pm 0,04$                            | $1,20 \pm 0,03$   |
| 1,2                                                            | 50                                        | $1,50 \pm 0,08$                               | $0,47 \pm 0,05$                            | $1,40 \pm 0,05$   |
| 1,8                                                            | 50                                        | $1,30 \pm 0,10$                               | $0,38 \pm 0,08$                            | $1,30 \pm 0,02$   |
| 2,4                                                            | 50                                        | $1,60 \pm 0,11$                               | $0,97 \pm 0,02$                            | $1,30 \pm 0,03$   |
| 0,6                                                            | 35                                        | $1,30 \pm 0,13$                               | $0,62 \pm 0,06$                            | $1,20 \pm 0,02$   |
| 1,2                                                            | 35                                        | $1,40 \pm 0,12$                               | $0,51 \pm 0,03$                            | $1,10 \pm 0,02$   |
| 0,6                                                            | 25                                        | $1,20 \pm 0,13$                               | $0,64 \pm 0,04$                            | $1,20 \pm 0,04$   |
| 1,2                                                            | 25                                        | $1,50 \pm 0,09$                               | $0,54 \pm 0,05$                            | $1,30 \pm 0,06$   |
| 0,6                                                            | 15                                        | $1,20 \pm 0,11$                               | $0,70 \pm 0,06$                            | $1,00 \pm 0,03$   |
| 1,2                                                            | 15                                        | $1,30 \pm 0,10$                               | $0,49 \pm 0,02$                            | $1,10 \pm 0,05$   |
| 0                                                              | 50                                        | $1,60 \pm 0,12$                               | $0,98 \pm 0,02$                            | $1,60 \pm 0,02$   |
| 0                                                              | 35                                        | $1,30 \pm 0,13$                               | $0,74 \pm 0,07$                            | $1,50 \pm 0,04$   |
| 0                                                              | 25                                        | $1,20 \pm 0,10$                               | $0,83 \pm 0,03$                            | $1,40 \pm 0,03$   |
| 0                                                              | 15                                        | $1,30 \pm 0,09$                               | $0,69 \pm 0,05$                            | $1,40 \pm 0,02$   |

Аналогічно, в роботах, присвячених ферментативній обробці ріпакового та гарбузового насіння перед пресуванням, не було виявлено суттєвих змін кислотного числа одержаних олій порівняно з оліями, одержаними за традиційним способом пресування [111,113]. Водночас, в даному дослідженні (Таблиця 3.3) спостерігається незначне зниження

пероксидного числа в зразках олії, одержаної з ферментованого насіння, порівняно з контрольними зразками олії. Це може бути пов'язано з імовірним підвищенням антиоксидантних властивостей олії внаслідок попередньої ферментативної обробки насіння, оскільки, під час ферментації, як відомо, руйнуються комплексні сполуки, утворені полісахаридами та токоферолами насіння, які є потужними природними антиоксидантами, що спричиняє проникнення токоферолів у олійну фазу [94]. Іншою причиною зменшення вмісту пероксидних сполук може бути інактивація ліпоксигеназ насіння внаслідок їх гідролізу протеазами[119].

### **3.5. Дослідження впливу кількості ферментної суміші та кількості внесеної з ферментами вологи на антиоксидантні властивості пресової гарбузової олії**

Під час визначення загальної антиоксидантної активності олії за реакцією гасіння радикалів 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилу (DPPH) протягом 30 хв було виявлено, що зменшення кількості внесеної ферментної суміші та вологи одночасно призводить до зниження антиоксидантної активності (Таблиця 3.4).

Таблиця 3.4

Вплив кількості ферментної суміші та кількості внесеної з ферментами вологи під час попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння на антиоксидантні властивості пресової олії

| Маса ферментної суміші для обробки насіння, % від маси насіння | Кількість внесеної з ферментами вологи, % | Антиоксидантна активність олії (% погашених радикалів DPPH' /30 хв), |
|----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| 0,3                                                            | 50                                        | 26,61 ± 0,03                                                         |
| 0,6                                                            | 50                                        | 33,14 ± 0,08                                                         |

|     |    |                  |
|-----|----|------------------|
| 1,2 | 50 | $30,56 \pm 0,05$ |
| 1,8 | 50 | $32,35 \pm 0,03$ |
| 2,4 | 50 | $22,84 \pm 0,03$ |
| 0,6 | 35 | $18,79 \pm 0,04$ |
| 1,2 | 35 | $20,45 \pm 0,01$ |
| 0,6 | 25 | $22,18 \pm 0,04$ |
| 1,2 | 25 | $27,15 \pm 0,05$ |
| 0,6 | 15 | $19,88 \pm 0,02$ |
| 1,2 | 15 | $19,93 \pm 0,02$ |
| 0   | 50 | $29,74 \pm 0,06$ |
| 0   | 35 | $16,26 \pm 0,01$ |
| 0   | 25 | $26,97 \pm 0,01$ |
| 0   | 15 | $20,11 \pm 0,03$ |

Збільшення антиоксидантної активності олії, одержаної після попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння, підтверджено також кінетикою реакції гасіння вільних радикалів DPPH<sup>o</sup> розчинами олії, одержаної з контрольних і проферментованих зразків гарбузового насіння при кількості внесеної з ферментами вологи 35 % (Рис. 3.5).

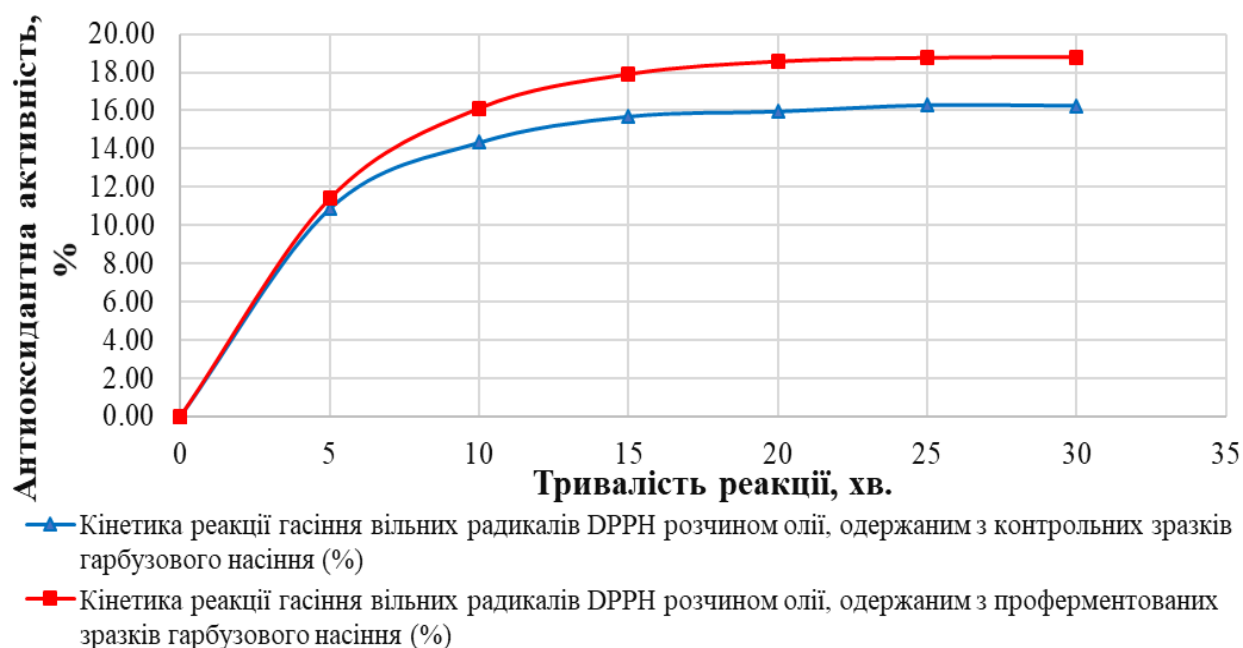


Рис. 3.5. Кінетика реакції гасіння вільних радикалів DPPH розчинами олії, одержаними з контрольних і проферментованих зразків гарбузового насіння при кількості внесеної ферментної суміші 0,6 % та вологи 35 %

Антиоксидантна активність олії, одержаної шляхом ферментації гарбузового насіння (кількість внесеної вологи 35 %), та контрольних зразків олії була практично однакова протягом першої («швидкої») стадії реакції та вища в кожній точці вимірювання в олії з проферментованого насіння порівняно з контролем під час другої («повільної») стадії.

Вища антиоксидантна здатність олії, вилученої із зразків насіння, в які внесено більше вологи, імовірно, пов'язана з тим, що для руйнування комплексів полісахаридів і токоферолів насіння необхідний більш інтенсивний перебіг реакції гідролізу.

### **3.6. Визначення раціональних технологічних параметрів попередньої ферментативної обробки м'ятки гарбузового насіння методом математичного планування експерименту**

Для визначення впливу технологічних параметрів попередньої ферментативної обробки насіння гарбуза звичайного та впливу взаємодій цих факторів на кількісний вихід олії експериментальні дослідження були проведені з використанням плану факторного експерименту. В якості основних факторів, які впливають на процес підготовки олійного матеріалу до механічного віджиму, було прийнято  $X_1$  – кількість ферментної суміші для обробки насіння (%) та  $X_2$  – кількість внесеної з ферментами вологи (%). В якості параметру оптимізації прийнято кількісний вихід пресової олії (%).

Рівні варіювання та кроки варіювання факторів було розраховано за формулами (2.5) та (2.6), відповідно, результати розрахунків наведені у Таблиці 3.5.

Таблиця 3.5

## Рівні варіювання та кроки варіювання факторів

| Фактор | Одиниці вимірювання | 0-рівень | Крок варіювання | Верхній рівень «+» | Нижній рівень «-» |
|--------|---------------------|----------|-----------------|--------------------|-------------------|
| $X_1$  | %                   | 0,6      | 0,6             | 1,2                | 0                 |
| $X_2$  | %                   | 32,5     | 17,5            | 50                 | 15                |

Перетворення натуральних значень факторів на кодовані змінні  $x_1$  та  $x_2$  було здійснено за допомогою формули (2.4), після чого було складено матрицю повного двохфакторного експерименту у натуральному і кодованому вигляді з використанням трирівневого плану Коно (Таблиця 3.6).

Таблиця 3.6

## Матриця повного двохфакторного експерименту

| $i$ | $X_1$ | $X_2$ | $x_0$ | $x_1$ | $x_2$ | $x_1 x_2$ | $x'_1 = x_1^2 - \varphi$ | $x'_2 = x_2^2 - \varphi$ | $Y_1$ | $Y_2$ | $Y_3$ | $Y$   |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-----------|--------------------------|--------------------------|-------|-------|-------|-------|
| 1   | 0     | 15    | +1    | -1    | -1    | +1        | 1/3                      | 1/3                      | 60,18 | 60,32 | 60,48 | 60,33 |
| 2   | 0     | 50    | +1    | -1    | +1    | -1        | 1/3                      | 1/3                      | 59,79 | 59,97 | 59,87 | 59,88 |
| 3   | 1,2   | 15    | +1    | +1    | -1    | -1        | 1/3                      | 1/3                      | 60,7  | 60,81 | 60,57 | 60,69 |
| 4   | 1,2   | 50    | +1    | +1    | +1    | +1        | 1/3                      | 1/3                      | 62,26 | 62,08 | 62,16 | 62,17 |
| 5   | 0     | 35    | +1    | -1    | 0     | 0         | 1/3                      | -2/3                     | 59,8  | 60,08 | 59,95 | 59,94 |
| 6   | 1,2   | 35    | +1    | +1    | 0     | 0         | 1/3                      | -2/3                     | 59,92 | 60,01 | 60,08 | 60,00 |
| 7   | 0,6   | 15    | +1    | 0     | -1    | 0         | -2/3                     | 1/3                      | 60,61 | 60,21 | 60,40 | 60,41 |
| 8   | 0,6   | 50    | +1    | 0     | +1    | 0         | -2/3                     | 1/3                      | 63,02 | 62,87 | 63,15 | 63,01 |
| 9   | 0,6   | 35    | +1    | 0     | 0     | 0         | -2/3                     | -2/3                     | 65,47 | 65,73 | 65,59 | 65,60 |

Оцінки рядкових дисперсій та перевірку їх однорідності було проведено згідно формул (2.20) та (2.21), відповідно. Оскільки, розрахункове значення критерію Кохрена  $G_p$  менше за його табличне значення  $G$ , ( $0,2566 < 0,801$ ), гіпотеза про однорідність оцінок дисперсій приймається. Це вказує на рівну точність фіксації результатів дослідів, а також на їхню відтворюваність.

Після проведення необхідних розрахунків та знаходження коефіцієнтів рівняння регресії залежність значення кількісного виходу

пресової олії від технологічних параметрів попередньої ферментативної обробки має вигляд (2.17):

$$y = 61,33667 + 0,45167x_1 + 0,605x_2 + 0,4825x_1x_2 - 2,505(x_1^2 - 2/3) - 0,765(x_2^2 - 2/3).$$

Після розкриття дужок та зведення подібних доданків рівняння регресії набуває вигляду (2.19):

$$y = 63,51667 + 0,45167 x_1 + 0,605 x_2 + 0,4825 x_1x_2 - 2,505 x_1^2 - 0,765 x_2^2.$$

Для оцінки статистичної значущості експерименту було використано критерій Стюдента, розрахований за формулою (2.23). Оскільки, розрахункове значення критерію Стюдента  $t_p$  більше за його табличне значення  $t$ , ( $53,202 < 2,1$ ), гіпотеза приймається статистично значущою.

Значущість коефіцієнтів рівняння регресії було оцінено за дисперсіями коефіцієнтів, розрахованими відповідно до формул (2.24–2.30), та «допусками»  $\Delta b_j$ , визначеними для кожного коефіцієнту за формулою (2.31).

Результати розрахунків наведено в Таблиці 3.7.

Таблиця 3.7

Дисперсії та значення «допусків» для коефіцієнтів рівняння регресії

| $S^2(b_0)$   | $S^2(b_1)$   | $S^2(b_2)$   | $S^2(b_{12})$   | $S^2(b_{11})$   | $S^2(b_{22})$   |
|--------------|--------------|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 0,0058       | 0,0044       | 0,0063       | 0,0044          | 0,0071          | 0,0053          |
| $\Delta b_0$ | $\Delta b_1$ | $\Delta b_2$ | $\Delta b_{12}$ | $\Delta b_{11}$ | $\Delta b_{22}$ |
| 0,1597       | 0,1395       | 0,1664       | 0,1400          | 0,1775          | 0,1526          |

Оскільки, значення модулю кожного коефіцієнта рівняння регресії більше, ніж значення відповідного йому «допуску»  $\Delta b_j$ , усі коефіцієнти рівняння є значимими.

Перевірку адекватності рівняння регресії (моделі) було здійснено за критерієм Фішера, розрахункове значення  $F_p$  якого, було одержане за формулою (2.32). Оскільки, розрахункове значення критерію Фішера менше

за його табличне значення  $F$  ( $0,0087 < 3,5546$ ), гіпотеза про адекватність одержаної математичної моделі приймається з імовірністю  $P$ .

Після заміни в рівнянні регресії кодованих змінних виду  $x_{1i}$  та  $x_{2i}$  на натуральні змінні  $X_1$  та  $X_2$ , використовуючи формулу (2.4), та після спрощення членів рівняння, було одержано модель у формі поліному 2-го порядку залежності дослідженої функції:

$$Y = 57,69403 + 7,60933X_1 + 0,16937X_2 + 0,04595X_1X_2 - 6,95833X_1^2 - 0,0025X_2^2.$$

У середовищі програми Mathcad було побудовано графічне зображення функції виходу пресової гарбузової олії від параметрів попередньої ферментативної обробки насіння (Рис. 3.6), а також було знайдено локальний максимум функції у точці  $(X_{1max}; X_{2max}) = (0,679; 40,116)$ , де досягається максимальний теоретичний вихід олії ( $Y = 65,76$ ).

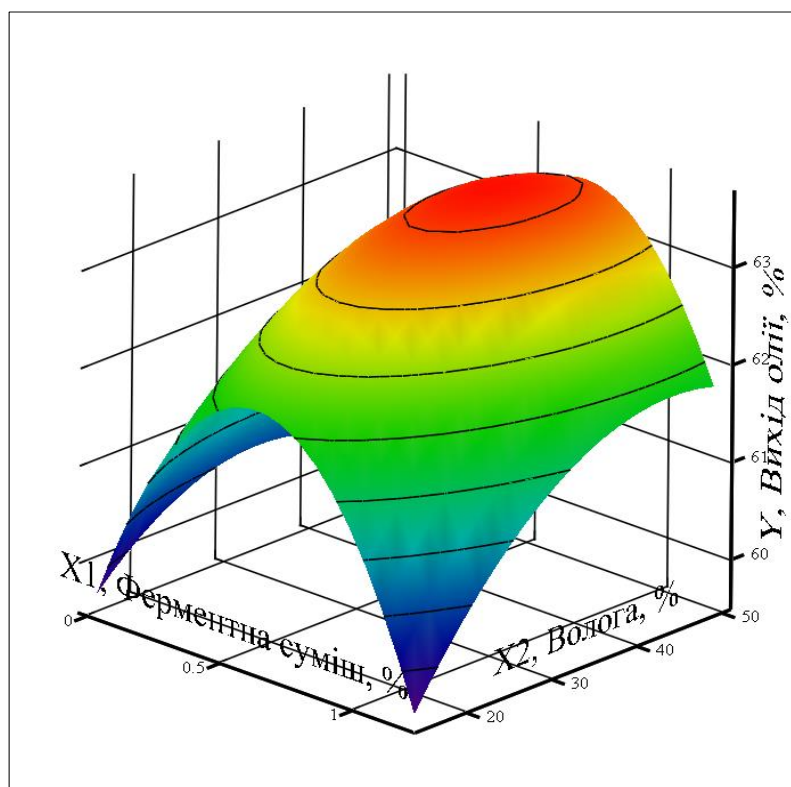


Рис. 3.6. Графічне зображення поверхні відгуку функції виходу пресової олії від параметрів попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння

Теоретичний вихід олії в точці локального максимуму функції суттєво не відрізняється від максимального експериментально одержаного виходу

олії (65,6 %) при  $X_1 = 0,6$  % та  $X_2 = 35$  %, що свідчить, що дана область параметрів (0,6-0,7 % ферментного препарату та 35-40 % вологи) є раціональною для попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння.

### 3.7. Висновки за розділом 3

1. Визначено, що застосування ферментативної обробки м'ятки насіння гарбуза звичайного кислою протеазою та целюлазою у співвідношенні 7:3, відповідно, при рН 5,2 дозволяє одержати максимальний кількісний вихід олії (60,3 %) та максимальний вміст у ній токоферолів (208,53 мкг/г), порівняно з іншими зразками того самого олійного матеріалу, обробленого ферментами за інших умов або у контрольних умовах.

2. Встановлено, що обробка насіння гарбуза звичайного ферментними препаратами із протеолітичною та геміцелюлолітичною активністю сприяє підвищенню ефективності вилучення з нього олії пресовим способом. Найбільший вплив на ефективність пресового вилучення олії з гарбузового насіння було виявлено під час його обробки ферментною сумішшю Флавозим+Пентопан 500 BG при рН 5,2, вихід пресової олії при цьому збільшився на 10,7 %, порівняно з контрольним зразком.

3. Визначено, що раціональними параметрами для попередньої ферментативної обробки насіння гарбузів сумішшю ферментних препаратів з протеолітичною та целюлолітичною активністю при співвідношенні 7:3 протягом 2 год при рН 5,2 та 48—54 °C є: кількість внесеної ферментної суміші 0,6 % та кількість внесеної з ферментами вологи 35 % від маси насіння. Використання таких технологічних параметрів надало можливість вилучити 65,6 % олії, що майже на 6 % вище, ніж у зразкові, обробленому за тих самих умов без додавання ферментів.

4. Встановлено, що попередня ферментативна обробка гарбузового насіння не має суттєвого впливу на фізико-хімічні показники якості

одержаної пресової олії, водночас сприяючи підвищенню її антиоксидантної активності.

5. Обґрунтовано поліноміальну регресійну модель залежності кількісного виходу пресової олії від параметрів ферментативної обробки гарбузового насіння та побудовано поверхню відгуку функції.

*Основні результати були оприлюднені в наступних наукових працях:*

1. Nosenko T, Vovk G, Koroluk T. Effect of hydrolytic enzymes pretreatment on the oil extraction from pumpkin seeds. Ukr Food J. 2019;8(1):80-88. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2019-8-1-9>

2. Патент України UA № 120692 Спосіб попередньої ферментативної обробки мятки насіння гарбуза звичайного. Автори: Носенко Т.Т., Вовк Г.О., Королюк Т.А., Бабенко В.І., Бахмач В.О. № а 201900465, заявл. 17.01.2019, опубл. 10.01.2020, Бюл. №1.

3. Вовк Г. О., Носенко Т. Т. Вплив попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння на вихід пресової олії та її хімічний склад // Матеріали Міжнародної конференції «Якість і безпечність харчової продукції і сировини – проблеми сьогодення» (Львів, 25 вересня 2020 р.). – С. 207-209.

4. Вовк Г. О., Носенко Т. Т., Гудзенко О. В. Дослідження впливу гідролітичних ферментів із протеолітичною та ксилолітичною активністю на ефективність пресового вилучення олії з гарбузового насіння // Матеріали XIV наукової конференції молодих вчених «Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві» (м. Чернігів, 27–28 жовтня 2020 р.). – С. 138-140.

5. Вовк Г. О., Носенко Т. Т. Вплив параметрів ферментативної обробки на вихід пресової гарбузової олії та її властивості. Наукові праці НУХТ. 2023;29(1):108-118. DOI: 10.24263/2225-2924-2023-29-1-10

## РОЗДІЛ 4

### ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ПОПЕРЕДНЬОЇ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ ОБРОБКИ НА КЛІТИННУ СТРУКТУРУ ГАРБУЗОВОГО НАСІННЯ ТА ВИХІД ОЛІЇ

Відомо, що олія в клітинах насіння міститься у вигляді специфічних ліпідних тіл, які називають олеосомами [54,120-124]. За своєю будовою олеосоми являють собою краплини, утворені триацилгліцеридами, та оточені мембраною, яка складається з моношару фосфоліпідів та поверхневого протеїнового шару, який наскрізь пронизує фосфоліпідний шар та проникає вглиб олеосоми [123,124]. Фосфоліпідний шар утворений переважно фосфатидилхоліном та фосфатидилсеріном, тоді як у протеїновому шарі переважає олеозин, у меншій кількості присутні калеозин та стеролеозин [121,123].

В той же час олеосоми зовні захищені стабільним пектиновим і лігноцелюлозним матриксом клітинних стінок насіння [54]. Ліпідні тіла в клітинах насіння вплетені в своєрідну цитоплазматичну мембрану, яка складається з білків [120]. Самі ж стінки клітин складаються переважно із лігніну та полісахаридів, таких як целюлоза, геміцелюлози, та пектини, однак містять також і значну кількість багатих гідроксипроліном глікопротеїнів та комплексів арабіногалактанів з протеїнами [120,125,126].

Олія дуже добре захищена різноманітними структурними компонентами клітин олійного насіння, тому, аби її вивільнити з олійного матеріалу, необхідно максимально зруйнувати ці структурні компоненти. Для подібного руйнування не достатньо дії лише механічних сил, перспективним в даному напрямку є застосування гідролітичних ферментів, які є потужними каталізаторами біохімічних реакцій, зокрема реакцій гідролізу різних складових клітин олійного матеріалу.

#### 4.1. Дослідження впливу попередньої обробки окремими ферментними препаратами на цілісність клітин гарбузового насіння

Результати дослідження показали, що з усіх зразків насіння гарбуза голонасінного, оброблених окремими ферментами, такими як пепсин, папаїн, Віскозим, целюлаза та пектиназа, було одержано вищу кількість екстрагованої олії методом «миттєвого збовтування», в межах від 33,2 до 34,1 %, порівняно з кількістю екстрагованої олії з контрольних зразків (32,1 %), які обробляли лише 100 мМ фосфатним буфером, рН 5,5 (Рис. 4.1).

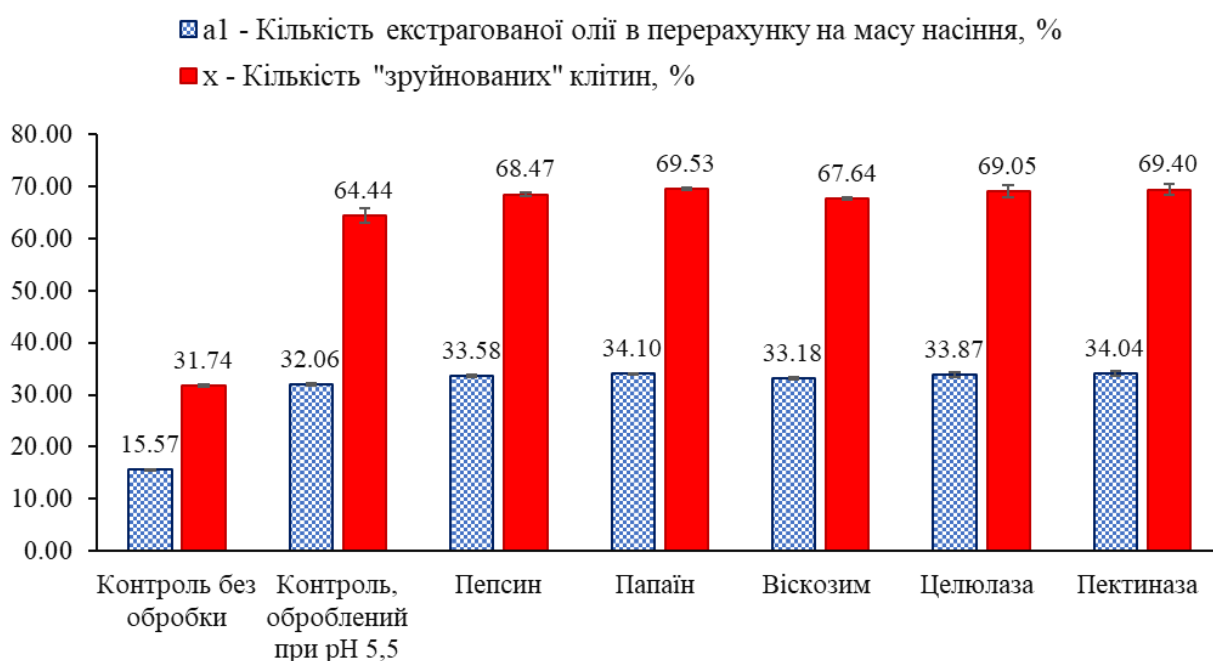


Рис. 4.1. Кількість екстрагованої олії та кількість «зруйнованих» клітин контрольних зразків гарбузового насіння та зразків, попередньо оброблених окремими ферментними препаратами

Виявлено, що зразки насіння, оброблені різними ферментами, також мали більшу кількість «зруйнованих» клітин, яка варіювалася від 67,6 до 69,5 % (контрольні зразки: 64,4 %). У попередній роботі [111] було встановлено, що попередня обробка подрібненого гарбузового насіння (з лушпинням) кислою протеазою при рН 5,2 протягом 2,0 годин за температури 48–52 °С призводить до збільшення кількості «зруйнованих» клітин на 10,4 %

порівняно з контрольними зразками. У дослідженні [111] також повідомляється, що відсоток «зруйнованих» клітин як у контрольних, так і в оброблених ферментами зразках нижчий (46,7 і 57,1 %, відповідно) порівняно з результатами даної роботи, що можна пояснити наявністю товстого лушпиння в насінні гарбуза звичайного. У дослідженні ферментативної попередньої обробки насіння ріпаку целюлазою (одержаною з *Bacillus subtilis*, 300 од/г, «Enzyme», Україна) у кількості 2,0 % (мас.) протягом 2 год при 40-42 °С також було виявлено відносно низький відсоток «зруйнованих» клітин як у контрольному, так і в обробленому ферментом зразку, що становив 35 і 50 %, відповідно [113]. У даному дослідженні вищий відсоток «зруйнованих» клітин може бути пов'язаний зі значно вищою температурою гідролізу (48–54 °С), тоді як менша різниця між кількістю «зруйнованих» клітин у попередньо оброблених і контрольних зразках може бути пов'язана з використанням меншої кількості ферменту (0,6 %) до маси насіння.

У той же час, найбільша різниця у кількості екстрагованої олії та кількості «зруйнованих» клітин спостерігається між контрольними зразками, інкубованими у фосфатному буфері при рН 5,5 протягом 2 годин, та контрольними зразками без такої обробки, що свідчить про те, що набрякання є важливим фактором, який слід враховувати при попередній обробці, навіть без використання ферментів. Аналогічний результат було отримано під час дослідження впливу різних методів попередньої обробки насіння соняшнику на екстракцію олії н-гексаном. Завдяки обробці очищеного насіння конвективним теплом або парою вихід олії був на 11 % вищим, ніж при екстракції сирого насіння протягом 1,0 год, тоді як обробка насіння Віскозимом у поєднанні з теплом або парою призвела до збільшення виходу олії порівняно з сирим контролем на 12 і 14 %, відповідно [127].

## 4.2. Дослідження впливу попередньої обробки ферментними сумішами на цілісність клітин гарбузового насіння

Одержані результати (Рис. 4.2) свідчать, що всі варіанти попередньої обробки насіння гарбуза голонасінного ферментними сумішами призводять до збільшення кількості екстрагованої олії під час «миттєвого збовтування» та кількості «зруйнованих» клітин порівняно з контрольними зразками. Спочатку для обробки насіння протягом 2,0 год використовували чотири різні ферментні суміші з кількістю суміші для кожного зразка 1,8 % (мас.). Найбільшу кількість «зруйнованих» клітин - 71,0 та 71,1 % - було виявлено у зразках, оброблених сумішами пепсин+Віскозим+пектиназа та пепсин+целюлаза+пектиназа, відповідно, що на 6,6 % більше, ніж у контрольних зразках (Рис. 4.2).

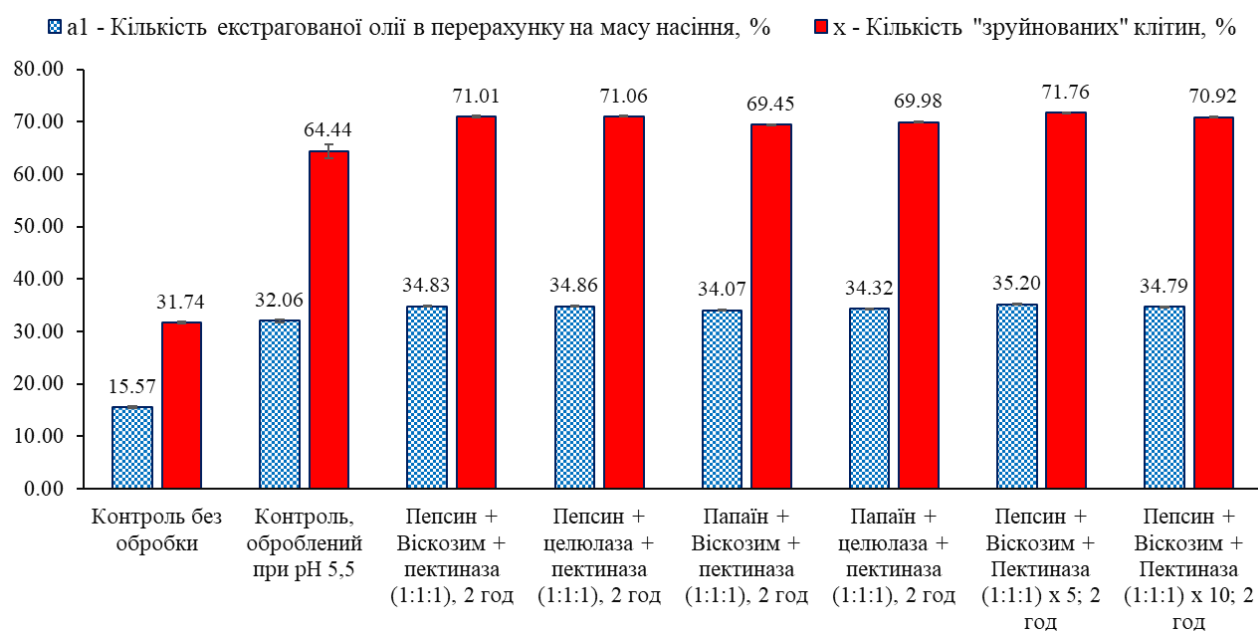


Рис. 4.2. Кількість екстрагованої олії та кількість «зруйнованих» клітин контрольних зразків гарбузового насіння та зразків, попередньо оброблених ферментними сумішами

Аналогічного результату було досягнуто за обробки подрібненого насіння гарбуза звичайного з оболонкою сумішшю кислої протеази та целюлази (одержаної з *T. reesei*) у різних співвідношеннях за pH 5,2, кількість

«зруйнованих» клітин досягала 60 %, що на 13 % більше, ніж у контрольних зразках [111].

Для дослідження впливу доданих ферментів та їх кількості подрібнене насіння гарбуза голонасінного обробляли сумішшю пепсин+Віскозим+пектиназа. У той же час не спостерігалось значних змін у кількості екстрагованої олії методом «миттєвого збовтування» або у кількості «зруйнованих» клітин при збільшенні кількості доданих ферментів у 5 або 10 разів (9,0 і 18,0 % мас., відповідно). Поясненням неефективності збільшення концентрації ферменту є те, що висока концентрація насичує вже наявні місця розщеплення, і що збільшення концентрації ферменту вище межі монолітного покриття ним субстрату не призводить до підвищення активності гідролізу.

Аналогічно, насіння сої та соняшнику перед екстракцією олії н-гексаном обробляли сумішами ферментів з целюлолітичною та пектолітичною активністю у кількості від 0,01 до 5,0 % від маси насіння [128]. Встановлено, що збільшення концентрації ферментної суміші понад 1,0 % під час попередньої обробки сої та понад 2,0 % для насіння соняшнику не призводить до інтенсифікації екстракції олії. В іншому дослідженні попередньої ферментативної обробки насіння ріпаку сумішшю протеази (одержаної з *Bacillus subtilis*, 70 од/г) і целюлази (одержаної з *Bacillus subtilis*, 300 од/г) змінювали концентрацію ферментної суміші (від 0,4 до 1,4 % мас.). Оптимальною концентрацією ферменту була 0,6 %, що дозволило досягти виходу пресової олії 43,1 % [113]. Надмірне збільшення тривалості ферментативної обробки є не тільки економічно не вигідним, але й може призвести до гідролізу полісахаридів з утворенням вільних редукуючих цукрів, які швидко карамелізуються при подальшому сушінні та перешкоджатимуть вивільненню олії [110,118].

#### **4.3. Дослідження впливу попередньої ферментативної обробки на мікроструктуру гарбузового насіння**

Для спостереження за впливом попередньої ферментативної обробки на клітинні стінки та олеосоми (олійні тіла) всередині клітин гарбузового насіння мікротомні зрізи насіння гарбуза голонасінного були ферментативно оброблені та порівнювались з необробленими зрізами (Рис. 4.3). У контрольних зразках зрізів гарбузового насіння, оброблених фосфатним буферним розчином, але без додавання ферментів, олійні тіла захищені клітинними стінками, а всі клітини – неушкоджені (Рис. 4.3 (а)). Зразки, оброблені пепсином, демонструють неушкоджені клітинні стінки, а також менш забарвлені олеосоми, що вказує на те, що білкова мембрана, яка містить олеозин і покриває олійні тіла, була частково зруйнована протеазою (Рис. 4.3 (б)). Пектиназа гідролізує пектин, який «склеює» клітини, що видно з Рис. 4.3 (в). Товщина клітинних стінок зрізів, оброблених пектиназою, також тонша, ніж у контрольних та оброблених пепсином зрізів, що може свідчити про дію целюлази та інших ферментів, які гідролізують клітинні стінки. Деякі розірвані клітини втратили свої олійні тіла, які видно ззовні (верхній лівий кут). Ефект Віскозиму був найбільшим, оскільки він вже є сумішшю різних ферментів і містить целюлази,  $\beta$ -глюканазу та геміцелюлази, які мають значно вищий вплив на структури клітинної стінки, зруйнувавши значну частину клітин і вивільнивши більшу частину олійних тіл з клітин (Рис. 4.3 (г)). Аналогічний результат спостерігався при обробці ядра соняшника Віскозимом [127]. Найефективнішою виявилась попередня обробка зрізів гарбузового насіння сумішшю пепсин+Віскозим+пектиназа (Рис. 4.3 (д) і 4.3 (е)). Як видно з Рис. 4.3 (д) клітинні стінки повністю зникають і спостерігаються лише залишки. Деякі з олеосом є неушкодженими (Рис. 4.3 (е)), але також видно великі плями вільної олії з

коагульованих олійних тіл з деякими неушкодженими олійними тілами, що свідчить про велику кількість зруйнованих олеосом.

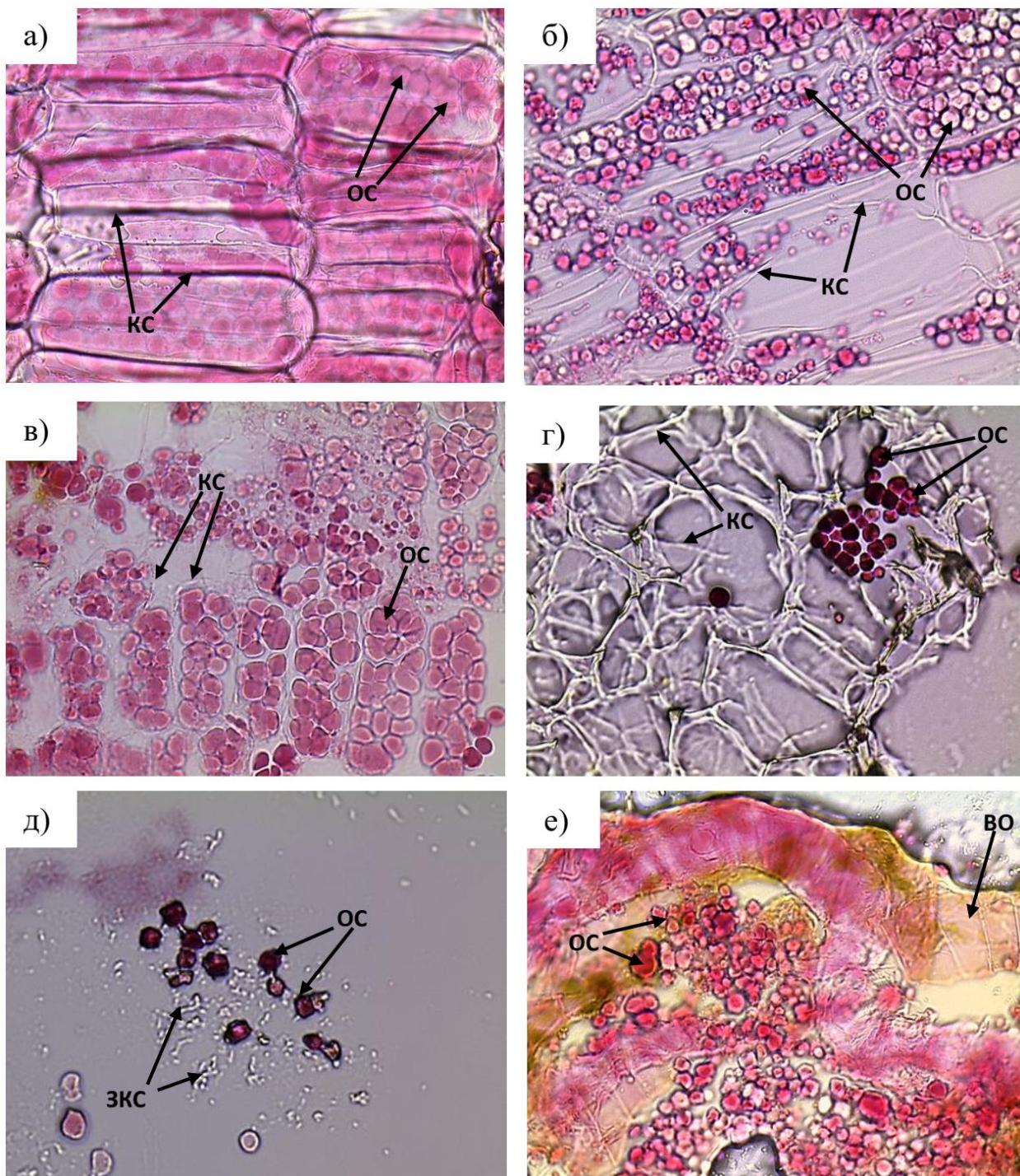


Рис. 4.3. Мікротомні зрізи насіння гарбуза, забарвлені Nuclear Fast Red: (а) зрізи, оброблені без додавання ферменту; (б) зрізи, оброблені пепсином; (в) зрізи, оброблені пектиназою; (г) зрізи, оброблені Віскозимом; (д), (е) зрізи, оброблені сумішшю пепсин+Віскозим+пектиназа. Збільшення 100 ×, КС - клітинні стінки, ОС - олеосоми, ЗКС - залишки клітинних стінок, ВО - вільна олія

У двох дослідженнях впливу попередньої обробки насіння граната ферментними препаратами Пектінекс Ультра, Флавозим і неочищеною целюлазою, а також ферментативної обробки клітковини пальмових плодів сумішшю Целік СТес2, Целік НТес2 і Пектінекс Ультра було досягнуто значного руйнування клітинних стінок і олеосом, проте не такого високого, як в даному дослідженні [112,129]. Під час перетравлення олійних тіл волоського горіха пепсином було виявлено великі олійні тіла, що свідчить про їх коалесценцію внаслідок руйнування поверхневих пептидів [130]. Механізм впливу пепсину в поєднанні з целюлолітичними, геміцелюлолітичними та пектолітичними ферментами пояснюється результатами експериментів з ферментною сумішшю (Рис. 4.3 (д) і 4.3 (е)), а саме, що протеолітична активність необхідна для руйнування мембранного білка олеосом, що призводить до коагуляції олії у великі краплі.

Водночас важливо зазначити, що така повна деградація структури клітинної стінки можлива лише у випадку мікротомних зрізів товщиною 20 мкм. Практично неможливо досягти такого ступеня руйнування при великих розмірах частинок, які зазвичай використовуються для механічного пресування (0,5-5 мм або навіть ціле гарбузове насіння), оскільки ферменти мають більш ефективний вплив на менші частинки з більшою питомою поверхнею. Клітини всередині частинки недоступні для ферментів до тих пір, поки клітини навколо них не будуть зруйновані.

#### **4.4. Дослідження впливу попередньої ферментативної обробки на пресовий вихід гарбузової олії та вміст залишкової олії в макусі**

Як видно з Рис. 4.4, вихід пресової олії з гарбузового насіння, обробленого сумішшю пепсин+Віскозим+пектиназа, становив 15,5 %, що на 7,0 % вище, ніж у контрольних зразках, а вихід олії, розрахований до

загального вмісту олії в гарбузовому насінні, на 14,3 % вищий порівняно з контрольними зразками (31,6 %).

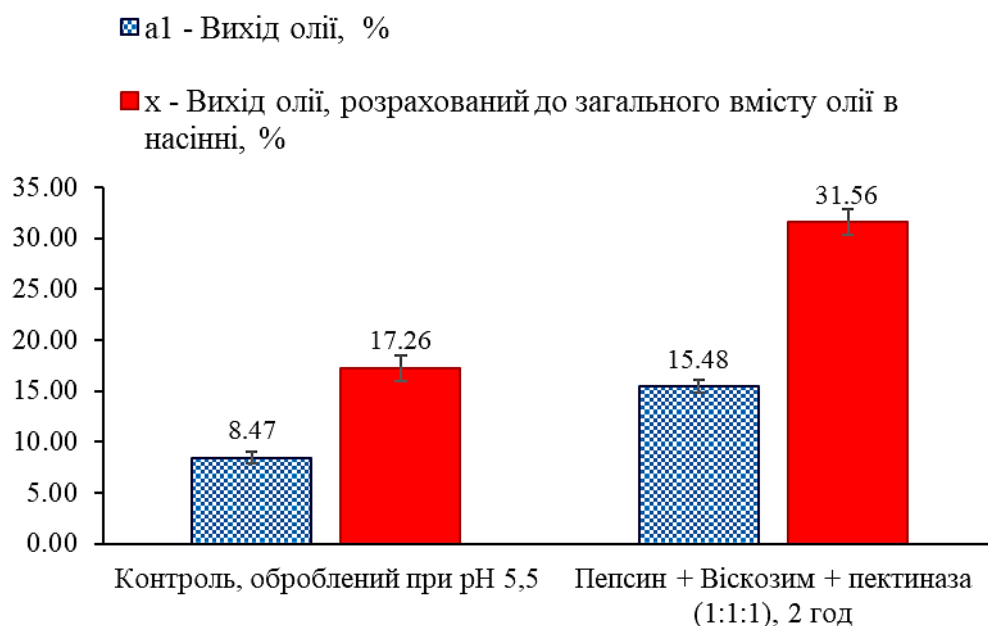


Рис. 4.4. Вихід пресової гарбузової олії з контрольних зразків та зразків, що пройшли попередню ферментативну обробку

Аналогічний результат було отримано при дослідженні холодного віджиму олії з ферментативно обробленого бавовняного насіння, де найвищий вихід олії – 12,89 % (від маси насіння) було отримано із зразків, оброблених Кемзимом, порівняно з виходом олії 8,50 % з контрольних зразків [115]. Збільшення виходу олії на 5,5 % та 6,1 % порівняно з контрольними зразками було досягнуто в результаті обробки Віскозимом насіння льону та конопель, відповідно.

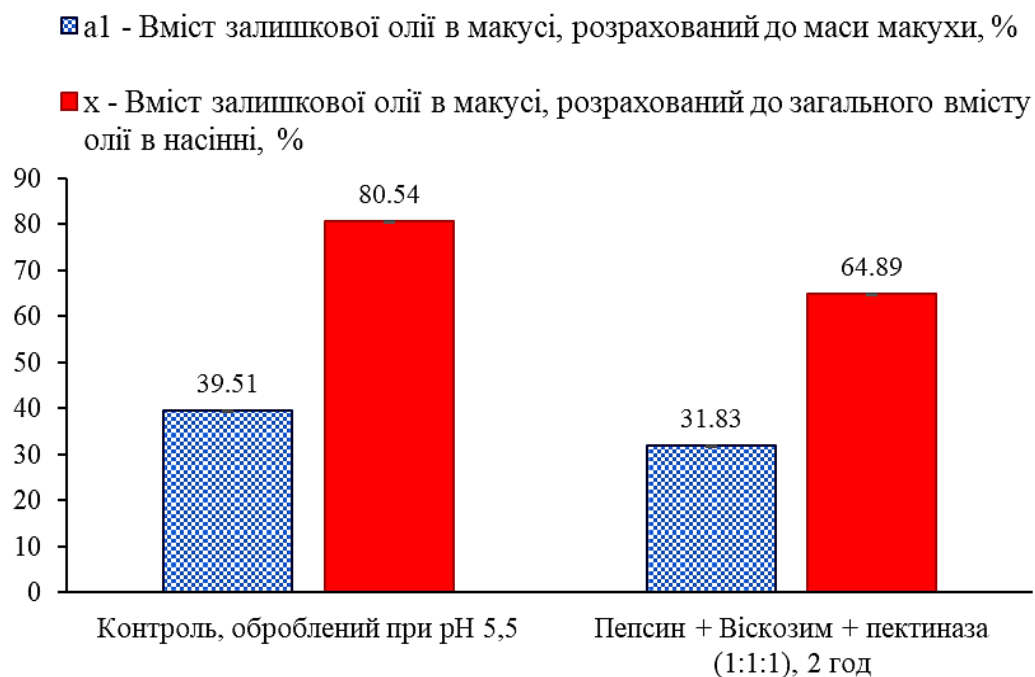


Рис. 4.5. Вміст залишкової олії в макусі, одержаній з контрольних зразків гарбузового насіння та зразків, що пройшли попередню ферментативну обробку

Низький вихід олії як з оброблених ферментами, так і з контрольних зразків гарбузового насіння може бути пов'язаний з використаними параметрами пресування, такими як температура пресування, діаметр отвору сопла пресу, розмір частинок і вологість олійного матеріалу, і які могли бути не оптимальними для даного типу насіння. Вміст залишкової олії в макусі гарбузового насіння (Рис. 4.5) зменшився з 39,5 % у контрольних зразках до 31,8 % у зразках, оброблених сумішшю пепсин+Віскозим+пектиназа, тоді як вміст залишкової олії в макусі, розрахований до загального вмісту олії в гарбузовому насінні (Рис. 4.5), зменшився з 80,5 % до 64,9 %, відповідно. Різниця між загальним вмістом олії в гарбузовому насінні (49,1 %) і сумою виходу олії та залишкового вмісту олії для контрольних зразків (48,0 %) та зразків, оброблених ферментами (47,3 %), ймовірно, пов'язана з втратами олії всередині пресу.

#### 4.5. Дослідження впливу попередньої ферментативної обробки на якість одержаної гарбузової олії та її антиоксидантну активність

Порівняння показників якості та антиоксидантної активності олії з насіння гарбузів наведено в Таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

Вплив попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння на фізико-хімічні показники якості та антиоксидантні властивості пресової олії

| Зразок олії                                            | Фізико-хімічні показники якості пресової олії |                                            | Антиоксидантна активність олії (% погашених радикалів DPPH°/30 хв) |
|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
|                                                        | Кислотне число, мг КОН/г                      | Пероксидне число, ммоль $\frac{1}{2}$ O/кг |                                                                    |
| Олія, одержана з контрольних зразків насіння           | 0,94 ± 0,13                                   | 1,68 ± 0,04                                | 17,55 ± 0,07                                                       |
| Олія, одержана з оброблених ферментами зразків насіння | 1,03 ± 0,13                                   | 1,62 ± 0,08                                | 20,24 ± 0,03                                                       |

Вміст вільних жирних кислот (ВЖК) в олії з насіння, обробленого сумішшю пепсин+Віскозим+пектиназа, був дещо вищим порівняно з контрольним зразком, тоді як перексидне число було дещо нижчим, ніж у контролі. Аналогічні результати спостерігалися при обробці насіння бавовнику препаратами Фітезим, Кемзим та Фідзим, що призвело до деякого збільшення вмісту ВЖК в отриманій пресовій олії (3,80, 3,90, 3,60, відповідно) порівняно з олією, отриманою з контрольного зразка (3,22), а також у насінні льону, обробленому Віскозимом, Кемзимом та Фідзимом, пероксидне число було дещо нижчим (1,90, 2,25, 2,19 ммоль  $\frac{1}{2}$ O/кг, відповідно), ніж у контролі (2,35 ммоль  $\frac{1}{2}$ O/кг) [17,115]. В результаті попередньої обробки насіння конопель ферментними препаратами Кемзим, Протекс, Віскозим, Фідзим та Натизим спостерігалися незначні зміни вмісту ВЖК (1,73–1,87 % в перерахунку на олеїнову кислоту) та пероксидного числа (1,54–1,62 ммоль  $\frac{1}{2}$ O/кг) порівняно з контролем (1,75 % та 1,57 ммоль  $\frac{1}{2}$ O/кг,

відповідно) [94]. Зниження пероксидного числа олії, отриманої з насіння, попередньо обробленого ферментами, може бути пов'язано з кращим вивільненням токоферолів і підвищеними антиоксидантними властивостями порівняно з контрольною олією. У той же час, при дослідженні олії холодного віджиму з насіння огірочника було виявлено, що вплив попередньої ферментативної обробки насіння на вміст ВЖК та пероксидів був незначним [117].

Попередня ферментативна обробка гарбузового насіння позитивно впливає на антиоксидантну активність олії, виражену ефективністю гасіння радикалів DPPH°. Одержані результати свідчать, що загальний ефект гасіння радикалів DPPH° пресової олії, одержаної з обробленого ферментами насіння, був на 2,7 % вищим, ніж у контрольної пресової олії (Таблиця 4.1). Аналогічний результат було отримано під час ферментативної обробки насіння льону: ефективність гасіння радикалів DPPH° в олії із зразків, оброблених Віскозимом, Фідзимом та Кемзимом (50,03, 45,30 та 43,01 %, відповідно), була значно вищою порівняно з гасінням радикалів DPPH° в олії з контрольних зразків насіння (35,20 %) [17]. Антиоксидантна активність олії з насіння граната підвищувалася за рахунок попередньої ферментативної обробки з 1,60 до 2,91 ммоль тролоксу/г олії з насіння граната, що підтверджено також за рахунок ефектом гасіння DPPH° [112]. Гасіння радикалів DPPH° в олії насіння перилли холодного віджиму становило 50,6 %, тоді як олія насіння перилли, одержана шляхом водно-ферментативної екстракції за допомогою ультразвуку в поєднанні з дією целюлази, нейтральної протеази та пектинази, мала здатність до гасіння радикалів DPPH° – 70,6 % [131]. Водночас сумарна здатність до гасіння радикалів DPPH° як олії з проферментованого гарбузового насіння, так і контрольної пресової олії була значно нижчою, ніж у попередніх дослідженнях антиоксидантних властивостей гарбузової олії, де активність гасіння DPPH° олії, отриманої екстракцією н-гексаном, становила 35,5 %, тоді як у

нерафінованої пресової олії зі смаженого гарбузового насіння цей показник коливався в межах від 32,28 до 65,33 % [132,133].

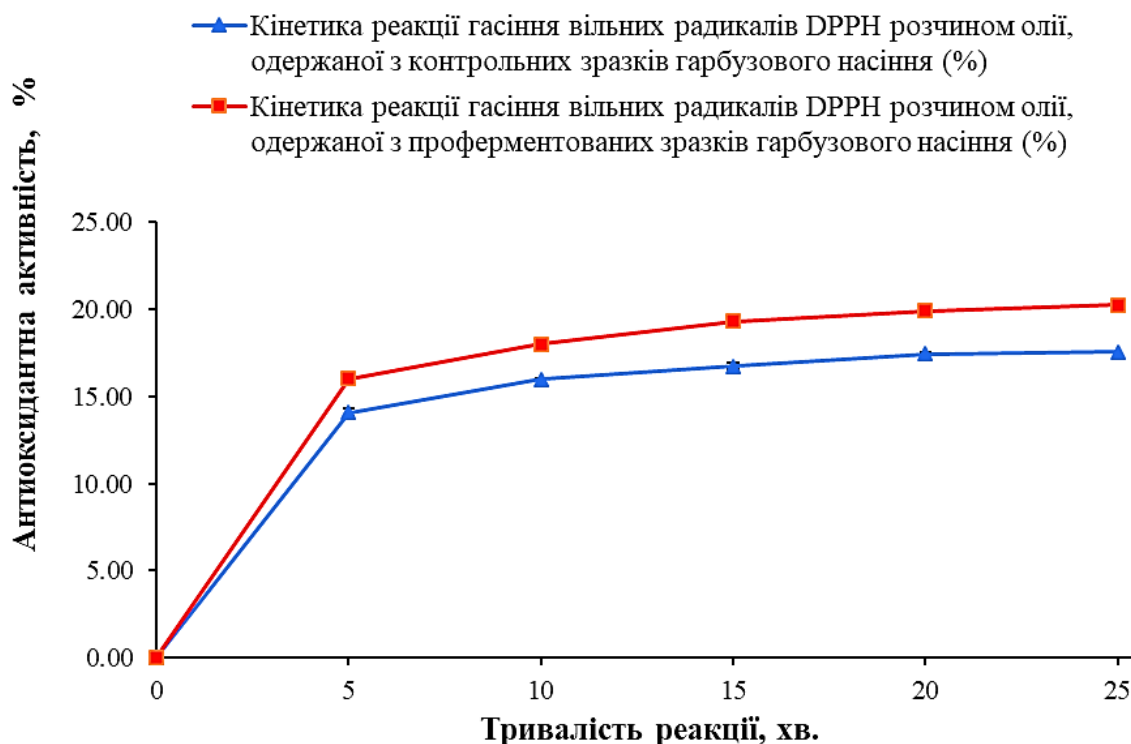


Рис. 4.6. Кінетика реакції гасіння вільних радикалів DPPH розчинами олії, одержаними з контрольних зразків гарбузового насіння та зразків, що пройшли попередню ферментативну обробку

Вплив попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння на кінетику гасіння радикалів DPPH<sup>o</sup> представлена на Рис. 4.6. Активність гасіння радикалів DPPH<sup>o</sup> пресової олії, одержаної з обробленого ферментами насіння, є значно вищою в кожній точці часу, ніж у контрольній пресової олії. Швидка початкова фаза реакції демонструє швидке поглинання радикалів DPPH<sup>o</sup> протягом перших 5 хв. Після цього реакція сповільнюється. В аналогічному дослідженні двофазної кінетики гасіння радикалів DPPH<sup>o</sup> в гарбузовій олії перша, швидка фаза відбувалася в межах 4,5–6,5 хв у зразках олії, отриманих з пасти смаженого насіння, тоді як для олії холодного віджиму з несмаженого насіння тривалість першої фази становила 8,5–10,5 хв [134].

#### 4.6. Дослідження впливу ферментативної обробки на жирнокислотний склад олії з насіння гарбузів

Жирнокислотний склад пресової гарбузової олії, отриманої з контрольних зразків насіння та зразків, що пройшли попередню ферментативну обробку, наведено в Таблиці 4.2. Найпоширенішими жирними кислотами серед ненасичених жирних кислот (ННЖК) як для контрольної олії, так і для олії з обробленого ферментами насіння, були лінолева кислота (56,2–57,0 %) та олеїнова кислота (23,2–24,3 %), тоді як серед насичених жирних кислот (НЖК) переважали пальмітинова та стеаринова кислоти, кількість яких становила 12,1 та 6,0 %, відповідно. Аналогічно, дослідження жирнокислотного складу олій зі 100 різних видів насіння штирійських гарбузів показало, що основні жирні кислоти гарбузової олії, такі як лінолева, олеїнова, пальмітинова та стеаринова, були виявлені в кількості 43,8–52,4, 28,6–38,1, 11,4–13,3 та 4,8–6,7 %, відповідно [135]. Вміст цих жирних кислот коливався в межах 44,30–51,58, 33,60–42,59, 9,13–13,35 та 0,27–0,55 % в іншому дослідженні, відповідно, коли було проаналізовано дванадцять зразків гарбузової олії різного походження [136].

Таблиця 4.2

Вплив попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння на жирнокислотний склад пресової олії

| Жирна кислота                           | Масова частка жирної кислоти, %<br>від загального вмісту |                                                                 |
|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
|                                         | Олія, одержана з<br>контрольних<br>зразків насіння       | Олія, одержана з<br>оброблених<br>ферментами<br>зразків насіння |
| Пальмітинова кислота (C 16:0)           | 12,07 ± 0,15                                             | 12,14 ± 0,15                                                    |
| Пальмітоолеїнова кислота (cis-9-C 16:1) | 0,11 ± 0,05                                              | 0,12 ± 0,05                                                     |
| Стеаринова кислота (C 18:0)             | 5,98 ± 0,10                                              | 5,96 ± 0,10                                                     |

|                                                   |              |              |
|---------------------------------------------------|--------------|--------------|
| Олеїнова кислота (cis-9-C 18:1)                   | 24,28 ± 0,20 | 23,23 ± 0,20 |
| Октадеценова кислота (cis-11-C 18:1)              | 0,51 ± 0,15  | 0,61 ± 0,15  |
| Ліолева кислота (cis, cis-9,12-C 18:2)            | 56,15 ± 0,20 | 57,03 ± 0,20 |
| α-Ліноленова кислота (cis,cis,cis-9,12,15-C 18:3) | 0,16 ± 0,20  | 0,16 ± 0,20  |
| Арахідонова кислота (C 20:0)                      | 0,38 ± 0,05  | 0,37 ± 0,05  |
| Бегенова кислота (C 22:0)                         | 0,11 ± 0,05  | 0,12 ± 0,05  |
| НЖК                                               | 18,70        | 18,75        |
| МНЖК                                              | 24,98        | 24,03        |
| ПНЖК                                              | 56,32        | 57,22        |
| ПНЖК:МНЖК                                         | 4,35         | 4,33         |

В результаті попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння вміст лінолевої кислоти у вилученій олії дещо збільшився, тоді як кількість олеїнової кислоти зменшилася, але також несуттєво (Таблиця 4.2). Незважаючи на те, що спостерігалось збільшення кількості поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) та зменшення вмісту мононенасичених жирних кислот (МНЖК), співвідношення ПНЖК:МНЖК суттєво не змінилося. Також не було виявлено суттєвої різниці вмісту пальмітинової, пальмітоолеїнової, стеаринової, октадеценової, α-ліноленової, арахідонової та бегенової кислот у олії з контрольних та оброблених ферментами зразків. Аналогічно, під час досліджень олій холодного віджиму, одержаних з насіння бавовни, льону, конопель та огірочника, не було виявлено значного впливу попередньої ферментативної обробки на жирнокислотний склад цих олій [17,94,115,117].

#### 4.7. Дослідження впливу ферментативної обробки на фітостероловий склад олії з насіння гарбузів

Вплив попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння на фітостериновий склад олії представлено в Таблиці 4.3.

Таблиця 4.3

Вплив попередньої ферментативної обробки насіння на склад фракції фітостеринів пресової гарбузової олії

| Фітостерол                             | Масова частка фітостеролу, % від загального вмісту |                                                        |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
|                                        | Олія, одержана з контрольних зразків насіння       | Олія, одержана з оброблених ферментами зразків насіння |
| Холестерол                             | 0,77± 0,05                                         | 0,82± 0,05                                             |
| Кампестерол                            | 1,74± 0,10                                         | 1,78± 0,10                                             |
| Стигмастерол                           | 1,95 ± 0,15                                        | 2,88 ± 0,15                                            |
| 24-Метилхолест-7-єнол                  | 0,91 ± 0,05                                        | 0,76 ± 0,05                                            |
| α-Спінастерол+Δ7,22,25-Стигмататрієнол | 48,69 ± 0,20                                       | 47,46 ± 0,20                                           |
| Δ5-Авенастерол                         | 1,75 ± 0,10                                        | 2,56 ± 0,10                                            |
| Δ7,25-Стигмастادیєнол                  | 22,47 ± 0,20                                       | 20,71 ± 0,20                                           |
| Δ7-Стигмастенол                        | 4,81 ± 0,10                                        | 4,52 ± 0,10                                            |
| Δ7-Авенастерол                         | 16,90 ± 0,15                                       | 18,51 ± 0,15                                           |
| <b>Загальний вміст:</b>                | 100,00                                             | 100,00                                                 |

α-спінастерол та Δ7,22,25-стигмататрієнол складають майже 50 % від загального вмісту стеролів і є домінуючими фітостеролами олії з контрольного та обробленого ферментами гарбузового насіння, тоді як Δ7,25-стигмастادیєнол та Δ7-авенастерол також присутні у відносно високих кількостях – 20,7–22,5 та 16,9–18,5 %, відповідно. Попередні дослідження фітостеринового складу гарбузової олії показали, що Δ7-стероли, такі як α-

спінастерол,  $\Delta 7,22,25$ -стигмататрієнол,  $\Delta 7,25$ -стигмастадієнол,  $\Delta 7$ -авенастерол та  $\Delta 7$ -стигмастенол, значно переважають над  $\Delta 5$ -стеролами [135,137].

Як показано в Таблиці 4.3, в пресовій олії, отриманій з проферментованого насіння гарбуза, спостерігається незначне зниження вмісту  $\alpha$ -спінастеролу,  $\Delta 7,22,25$ -стигмататрієнолу та  $\Delta 7,25$ -стигмастадієнолу, тоді як вміст стигмастеролу,  $\Delta 5$ -авенастеролу та  $\Delta 7$ -авенастеролу дещо збільшився. Аналогічно, вміст стигмастеролу в олії, отриманій з попередньо оброблених ферментами зразків насіння граната, був значно вищим (29,8–52,0 мг/100 г олії) порівняно з контрольними зразками олії з насіння граната (20,5–45,8 мг/100 г олії), що може бути пов'язано зі зменшенням комплексоутворення фітостеролів з полісахаридами насіння і подальшим посиленням їх масопереносу в олійну фазу [112].

#### **4.8. Висновки за розділом 4**

1. Встановлено, що обробка гарбузового насіння окремими ферментами, такими як пепсин, папаїн, Віскозим, целюлаза та пектиназа, сприяла вилученню з нього олії методом «миттєвого збовтування», кількість «зруйнованих» клітин в усіх оброблених різними ферментами зразках насіння гарбуза голонасінного була вищою порівняно з кількістю «зруйнованих» клітин контрольних зразків (64,4 %) та варіювала в межах від 67,6 до 69,5 %,.

2. Визначено, що всі варіанти попередньої обробки насіння гарбуза голонасінного ферментними сумішами призводять до збільшення кількості «зруйнованих» клітин порівняно з контрольними зразками. Найбільшу кількість «зруйнованих» клітин - 71,0 та 71,1 % - було виявлено у зразках, оброблених сумішами пепсин+Віскозим+пектиназа та пепсин+целюлаза+пектиназа, відповідно, що на 6,6 % більше, ніж у контрольних зразках.

3. Встановлено, що збільшення кількості доданої ферментної суміші понад 1,8 % не призводить до збільшення кількості «зруйнованих» клітин, що, імовірно, зумовлено насиченням ферментом відповідних хімічних зв'язків субстрату.

4. Визначено, що найбільший вплив на мікроструктуру гарбузового насіння має попередня обробка сумішшю пепсин+Віскозим+пектиназа, що призводить до практично повного розщеплення та зникнення клітинних стінок, руйнування олеосом та коагуляції вільної олії. Значного ефекту зміни мікроструктури клітин гарбузового насіння можна також досягти шляхом обробки окремим ферментним препаратом Віскозим, оскільки він є сумішшю різних ферментів (целюлази,  $\beta$ -глюканаза, геміцелюлази), що дозволяє зруйнувати значну частину клітин і вивільнити з них більшу частину олійних тіл.

5. Встановлено, що попередня ферментативна обробка насіння гарбуза голонасінного ферментною сумішшю пепсин+Віскозим+пектиназа сприяє збільшенню виходу пресової олії на 7,0 % порівняно з контрольними зразками, а вихід олії, розрахований до загального вмісту олії в насінні, на 14,3 % вищий, ніж у контрольних зразках.

6. Встановлено, що попередня ферментативна обробка насіння гарбуза голонасінного не має суттєвого впливу на фізико-хімічні показники якості та склад одержаної пресової олії, водночас сприяючи підвищенню її антиоксидантної активності, вираженої поглинанням радикалів DPPH°, а також деякому збільшенню вмісту стигмастеролу, що зумовлює підвищення біологічної цінності такої олії.

*Основні результати були оприлюднені в наступних наукових працях:*

1. Vovk H, Karnpakdee K, Golubets O, Levchuk I, Ludwig R, Nosenko T. Application of enzymes for pressed oil production from pumpkin seeds. Ukr Food J. 2023;12(1):21-37. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2023-12-1-4>

2. Вовк Г. О., Носенко Т. Т. Вплив ферментативної обробки на мікроструктуру насіння гарбуза голонасінного // Матеріали 88 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у ХХІ столітті» (м. Київ, НУХТ, квітень – травень 2022 р.). – С. 269.

## РОЗДІЛ 5

### ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО УДОСКОНАЛЕННЯ ТЕХНОЛОГІЇ ПЕРЕРОБКИ НАСІННЯ ГАРБУЗІВ ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ ПОПЕРЕДНЬОЇ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ ОБРОБКИ

Обробка гарбузового насіння гідролітичними ферментами у поєднанні з традиційною технологією пресування може інтенсифікувати дію механічних та фізичних сил, спрямованих на максимальне руйнування структурних компонентів матеріалу та вивільнення з нього олії. Традиційна технологія пресового вилучення олії з матеріалу зазвичай включає такі стадії як очищення насіння від домішок, відділення насіннєвих оболонок (за необхідності), подрібнення, волого-теплову обробку та пресування. В технології, запропонованій у даній роботі, передбачається суміщення стадії попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння зі стадією його волого-теплової обробки.

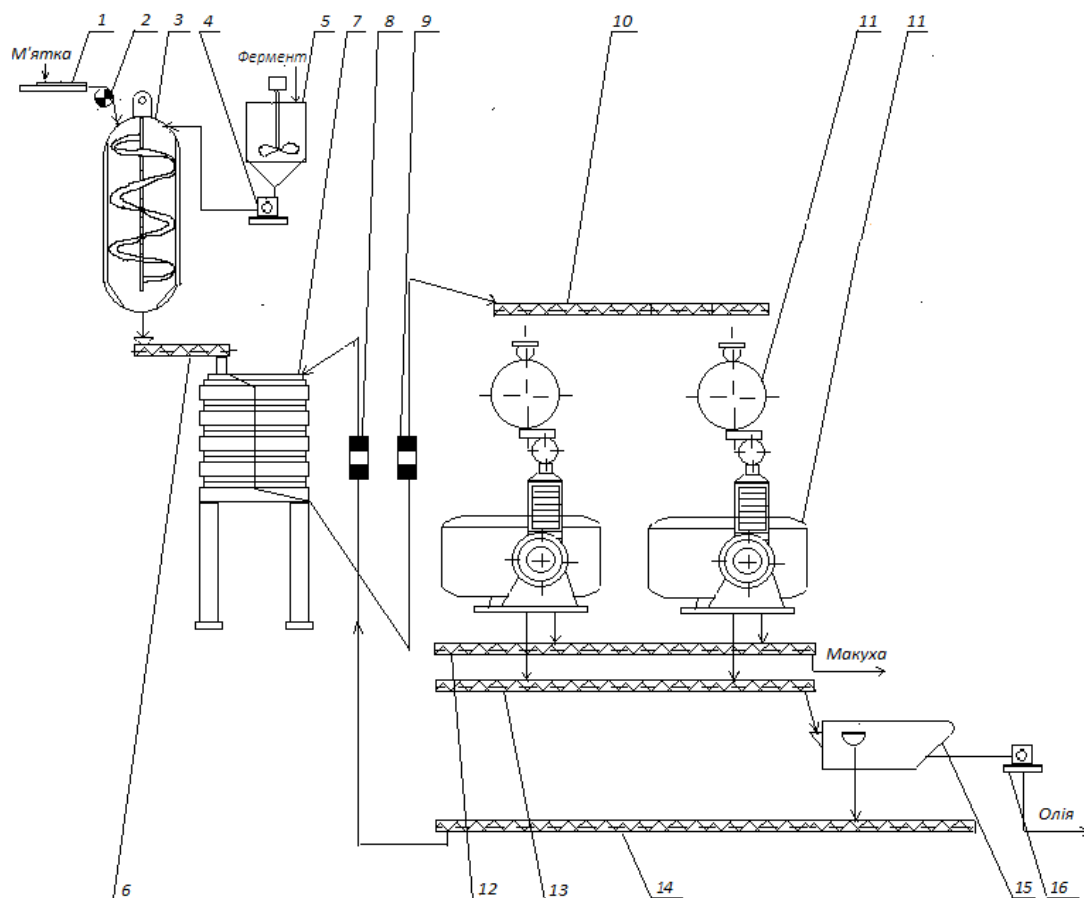


Рис. 5.1. Розроблена апаратурно-технологічна схема однократного пресування із застосуванням попередньої ферментативної обробки м'ятки гарбузового насіння

Розроблена технологічна схема добування гарбузової олії з використанням попередньої ферментативної обробки м'ятки насіння та подальшою стадією пресування представлена на Рисунку 5.1. Дана апаратурно-технологічна схема відрізняється від традиційної схеми однократного пресування олійного матеріалу наявністю вузла попередньої ферментативної обробки, який включає в себе експозитор 3, насос 4 та ємність 5. Згідно розробленої технологічної схеми м'ятка гарбузового насіння, пройшовши струшуюче сито 1 та електромагнітний сепаратор 2 направляється в експозитор 3, куди одночасно насосом 4 подається розчин ферментної суміші, який готується в ємності 5. В експозиторі 3, паралельно зі зволоженням, відбувається попередня ферментативна обробка м'ятки протягом заданого часу при постійному перемішуванні, після чого вона направляється в інактиватор 6, де здійснюється інактивація ферменту. Далі м'ятка поступає в чанну жаровню 7, де висушується при заданій температурі протягом заданого часу при постійному перемішуванні. З жаровні 7 мезга норією 9 і шнеком 10 направляється на віджим олії та рівномірно розподіляється на преси 11, які можуть працювати одночасно або позмінно. Макуха з пресів відводиться шнеком 12, тоді як одержана олія шнеком 13 подається в гущевловлювач 15, де очищується від часточок макухи, і насосом 16 направляється на фільтрування. Осад, який вивантажується з гущевловлювача, шнеком 14 та норією 8 подається в чанну жаровню 7 на повторну переробку.

Виходячи з результатів експериментальних досліджень, здійснених у попередніх розділах даної роботи, а також враховуючи визначені раціональні параметри попередньої ферментативної обробки м'ятки гарбузового насіння, розроблено технологічну карту підготовки м'ятки насіння гарбузів та

пресового вилучення гарбузової олії. Розроблена технологічна карта представлена в Таблиці 5.1.

Таблиця 5.1

Технологічна карта попередньої ферментативної обробки м'ятки гарбузового насіння та пресового вилучення з неї олії

| Параметр                                                                                                   | Значення |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <i>Стадія попередньої ферментативної обробки та волого-теплової обробки м'ятки</i>                         |          |
| Ступінь подрібнення насіння, % прохід через сито 10 мм не менше                                            | 100      |
| Початкова вологість м'ятки, %                                                                              | 7,0±0,5  |
| Загальна кількість ферментної суміші, внесеної з розчином ферментної суміші, % від маси м'ятки. При цьому: | 0,6      |
| - кількість в ферментній суміші ферментного препарату з протеолітичною активністю, % від маси м'ятки       | 0,42     |
| - кількість в ферментній суміші ферментного препарату з целюлолітичною активністю, % від маси м'ятки       | 0,18     |
| Кількість води, внесеної з розчином ферментної суміші, % від маси м'ятки                                   | 35,0     |
| pH розчину ферментної суміші*                                                                              | 5,2±0,2  |
| Температура обробки м'ятки в експозиторі розчином ферментної суміші, °C                                    | 50±2     |
| Тривалість обробки м'ятки в експозиторі розчином ферментної суміші, хв.                                    | 120      |
| Температура висушування м'ятки в жаровні, °C                                                               | 102±2    |
| Тривалість висушування м'ятки в жаровні, хв                                                                | 90       |
| <i>Стадія пресування мезги</i>                                                                             |          |
| Вологість мезги, %                                                                                         | 7,5±0,5  |
| Температура в пресі, °C                                                                                    | 90±30    |
| Діаметр отвору сопла, мм**                                                                                 | 6,0      |
| <i>Очікувані виходи продуктів процесу</i>                                                                  |          |
| Кількість вилученої олії, % від вмісту олії в насінні, не менше                                            | 65,6±0,1 |
| Залишкова олійність макухи, % від вмісту олії в насінні, не більше                                         | 34,4±0,1 |

\*Примітка. Необхідне значення рН розчину ферментної суміші досягається шляхом розчинення ферментної суміші в фосфатному буферному розчині з відповідним значенням рН.

\*\* Примітка. За наявності, залежить від конструкції пресу.

Проведені експериментальні дослідження показали, що використання обробки гарбузового насіння ферментними препаратами призводить до збільшення ступеню руйнування цілісності клітин та збільшення ефективності вилучення з нього олії. Отже, даний процес може бути впроваджений у виробничих умовах на підприємствах з добування олії пресовим методом. Однак, варто враховувати, що тривалі процеси витримки олійного матеріалу з розчином ферментів та висушування мало сумісні з безперервним виробництвом. З огляду на це, дану технологічну розробку рекомендовано застосовувати на підприємствах невеликої потужності, для яких характерна наявність ліній періодичної або напівбезперервної дії.

### **5.1. Висновки за розділом 5**

1. Розроблено апаратурно-технологічну схему однократного пресування, яка передбачає поєднання стадії попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння зі стадією його волого-теплової обробки та дає можливість збільшити кількісний вихід пресової олії на 5–10 %. Дану технологію доцільно використовувати на підприємствах невеликої потужності.

2. Розроблено технологічну карту виробництва гарбузової олії пресовим методом із використанням попередньої ферментативної обробки м'ятки гарбузового насіння.

## ВИСНОВКИ

На основі аналізу науково-технічної літератури, виконаних експериментальних досліджень, математичного моделювання та теоретичних узагальнень одержаних результатів вирішено конкретне наукове завдання щодо удосконалення технології пресового вилучення олії з насіння гарбузів за допомогою ферментних препаратів. Результати проведених досліджень дозволили зробити наступні висновки:

1. На підставі проведеного літературного огляду за темою дисертаційної роботи було сформульовано робочу гіпотезу, яка полягає в тому, що використання ферментативної обробки гарбузового насіння перед пресуванням дає можливість збільшити вихід олії внаслідок інтенсифікації ферментами процесів руйнування клітинної структури олійного матеріалу.

2. Проведеними дослідженнями впливу ферментів на ефективність вилучення олії з олійного матеріалу встановлено, що обробка насіння гарбуза звичайного ферментними препаратами із протеолітичною, целюлолітичною та геміцелюлолітичною активністю сприяє підвищенню ефективності вилучення з нього олії пресовим способом. Застосування ферментативної обробки м'ятки насіння гарбуза звичайного кислою протеазою та целюлазою у співвідношенні 7:3, відповідно, при рН 5,2 дозволяє одержати максимальний кількісний вихід олії (60,3 %) та максимальний вміст у ній токоферолів (208,53 мкг/г), порівняно зі зразками того самого олійного матеріалу обробленого за інших умов.

3. На основі експериментальних досліджень та математичного моделювання визначено, що раціональними параметрами попередньої обробки м'ятки насіння гарбуза звичайного ферментними препаратами із протеолітичною та целюлолітичною активністю є: загальна кількість ферментної суміші для обробки м'ятки – 0,6 % від маси м'ятки; співвідношення ферментних препаратів з протеолітичною та целюлолітичною активністю у ферментній суміші – 7:3, відповідно; кількість

внесеної з розчином ферментної суміші вологи – 35 % від маси м'ятки; рН розчину ферментної суміші – 5,2. Встановлено збільшення виходу пресової олії при дотриманні цих умов на 5,7 % у порівнянні із контролем.

4. Проведеними дослідженнями впливу ферментів на клітинну структуру олійного матеріалу встановлено, що усі варіанти обробки насіння гарбуза голонасінного окремими ферментними препаратами з протеолітичною, целюлолітичною, геміцелюлолітичною та пектолітичною активністю та їх сумішами, сприяли збільшенню в ньому кількості «зруйнованих» клітин, визначеної методом «миттєвого збовтування», порівняно з контрольними зразками насіння. Найвищу кількість «зруйнованих» клітин – 71,0 та 71,1 % – було виявлено у зразках, оброблених сумішами пепсин+Віскозим+пектиназа та пепсин+целюлаза+пектиназа, відповідно, що на 6,6 % більше, ніж у контрольних зразках. Встановлено вплив ферментів на мікроструктуру гарбузового насіння: обробка сумішшю пепсин+Віскозим+пектиназа призводить до практично повного розщеплення клітинних стінок, руйнування олеосом та коагуляції вільної олії в мікротомному зрізі насінини. Обробка м'ятки насіння гарбуза голонасінного цією ж ферментною сумішшю перед пресуванням призвела до збільшення виходу олії на 14,3 % порівняно з контрольними зразками.

5. Встановлено, що попередня ферментативна обробка насіння гарбузів не має суттєвого впливу на фізико-хімічні показники якості та склад одержаної пресової олії, водночас сприяючи підвищенню від 2 до 3,4 % її антиоксидантної активності, вираженої гасінням радикалів DPPH°, а також збільшенню вмісту в ній токоферолів на 68,5 %, що зумовлює підвищення біологічної цінності такої олії.

6. Розроблено апаратурно-технологічну схему та технологічну карту виробництва гарбузової олії методом однократного пресування із використанням попередньої ферментативної обробки м'ятки гарбузового насіння.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Колтунов В.А. Харчові продукти. Фрукти, ягоди, овочі, гриби : підручник / В.А. Колтунов. - К. : Киш. нац. торг.-екон. ун-т, 2013. - 484 с. - (Сер. «Товарознавство»).
2. Формазюк В.И. Энциклопедия пищевых лекарственных растений: Культурные и дикорастущие растения в практической медицине / Под. ред. Н.П. Максютной. — К.: Издательство А.С.К., 2003. — 792 с.
3. Давыдова В.Р. Биологическая ценность тыквенного масла, особенности технологии производства / В.Р. Давыдова, Т.А. Выхованец // Modern problems and ways of their solution in science, transport, production and education: матеріали наук.-практ. конф., 18-27 груд., 2012 р. / Нац.ун-т економ. и торг. им. Михайла Туган-Барановського, Нац. мед.ун-т им.Максима Горького. – Донецк : SWorld, 2012, 7с.
4. Иванова В.Д., Сімахіна Г.О. Технологія природних вітамінів: Навч. посіб. — К.: НУХТ, 2015. — 343 с.
5. Копейковский В.М., Данильчук С. И. и др. Технология производства растительных масел. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982. – 416 с.
6. Щербаков В. Г. Технология получения растительных масел. М.: Колос, 1992. – 207 с.
7. Шиков А.Н., Макаров В.Г., Рыженков В.Е. Растительные масла и масляные экстракты: технология, стандартизация, свойства. М.: Русский врач, 2004. — 120-121 с.
8. Патент RU 2 051 596 C1 Способ получения экстракта из семян тыквы. Изобретатель(и): Нарбеков О.Н., Карчубеков Б.К., Сапаралиева Д.Д. № SU 925049745A, заявл. 25.06.1992, опубл. 10.01.1996.
9. Патент RU 2 197 977 C2 Масло семян тыквы, обладающее противовоспалительным, противоязвенным и гепатопротекторным

действием, и способ его получения. Изобретатель(и): Дмитриенко Н.В., Кузнецова О.Н. № RU 2001110522А, заявл. 17.04.2001, опубл. 10.02.2003.

10. Патент RU 2 170 027 С1 Способ получения масла из семян тыквы с повышенным содержанием биологически активных веществ. Изобретатель(и): Горлов И.Ф., Каренгина Т.В., Беляев В.И. № RU 2000110958А, заявл. 28.04.2000, опубл. 10.07.2001.

11. Патент RU 2 064 485 С1 Способ производства масла из семян тыквы для медицинских целей. Изобретатель(и): Дмитриенко Н.В., Чернова Н.И. № RU 94037141А, заявл. 30.09.1994, опубл. 27.07.1996.

12. Патент RU 2 018 514 С1 Способ получения масла из семян тыквы. Изобретатель(и): Чабан Л.Н., Емцов В.И., Батищев В.И., Мкртчян А.Г. № RU 93000348А, заявл. 25.01.1993, опубл. 30.08.1994.

13. Патент RU 2 441 664 С2 Способ получения масла из семян тыквы и получение лекарственного средства с особыми свойствами для лечения печени. Автор(ы): Михалев В.Ю. № RU 2009102678А, заявл. 14.01.2009, опубл. 10.02.2012, Бюл. № 4.

14. Патент RU 2 445 111 С1 Способ получения масла из семян тыквы, используемого в лечебных, пищевых и косметических целях и биологически активное средство. Автор(ы): Михалев В.Ю., Михалева М.А. № RU 2010129647А, заявл. 15.07.2010, опубл. 20.03.2012, Бюл. № 8.

15. Патент RU 2 550 076 С2 Способ получения и состав масла из семян тыквы. Автор(ы): Тырков А. Г., Великородов А. В., Ковалев В.Б., Носачев С. Б., Пучков М. Ю., Абдельрахим М.А. № RU 2013117555А; заявл. 16.04.2013, опубл. 10.05.2015, Бюл. № 13.

16. Патент RU 2 179 179 С2 Способ получения масла семян бахчевых культур. Изобретатель(и): Чабан Л.Н., Аксененко А.И., Транский М.Б., Шапилов Г.С., Пономарева Т.Д. № RU 2000100844А, заявл. 17.01.2000, опубл. 10.02.2002.

17. Anwar F, Zreen Z, Sultana B, Jamil A. Enzyme-aided cold pressing of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.): Enhancement in yield, quality and phenolics of the oil. *GrasasAceites*. 2013;64:463-471. <https://doi.org/10.3989/gya.132212>
18. Hanmoungjai P, Pyle L, Niranjana K. Extraction of rice bran oil using aqueous media. *J Chem Technol Biotechnol*. 2000;75:348-352. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4660\(200005\)75:5<348::AID-JCTB233>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4660(200005)75:5<348::AID-JCTB233>3.0.CO;2-P)
19. Toxicological review of n-hexane: in support of summary information on the integrated risk information system (IRIS). U.S. Environmental Protection Agency (2005), Washington, DC, (EPA/635/R-03/012)
20. Wan PJ, Hron RJ, Dowd MK, Kuk MS, Conkerton EJ. Alternative hydrocarbon solvents for cottonseed extraction: plant trials. *J Am Oil Chem Soc*. 1995;72(6):661-664. <https://doi.org/10.1007/BF02635651>
21. Tanzi CD, Vian MA, Ginies C, Elmaataoui M, Chemat F. Terpenes as green solvents for extraction of oil from microalgae. *Molecules*. 2012;17:8196-8205. <https://doi.org/10.3390/molecules17078196>
22. Matthieu V, Tomao V, Ginies C, Visinoni F, Chemat F. Green procedure with a green solvent for fats and oils' determination microwave-integrated Soxhlet using limonene followed by microwave Clevenger distillation. *J Chromatogr A*. 2008;1196-1197:147-152. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.04.035>
23. Sean XL, Mamidipally PK. Quality comparison of rice bran oil extracted with D-limonene and hexane. *Cereal Chem*. 2005;82(2):209-215.
24. Li Y, Fine F, Fabiano-Tixier A, Abert-Vian M, Carre P, Pages X, Chemat F. Evaluation of alternative solvents for improvement of oil extraction from rapeseeds. *C R Chim*. 2014;17(3):242-251. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2013.09.002>

25. Boutin O, Badens E. Extraction from oleaginous seeds using supercritical CO<sub>2</sub>: experimental design and products quality. J Food Eng. 2009;92(4):396-402. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.12.007>
26. Latif S, Anwar F, Hussain AI, Shahid M. Aqueous enzymatic process for oil and protein extraction from *Moringa oleifera* seed. Eur J Lipid Sci Technol. 2011;113:1012-1018. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201000525>
27. Chabrand RM, Glatz CE. Destabilization of the emulsion formed during the enzyme-assisted aqueous extraction of oil from soybean flour. Enzyme Microb Technol. 2009;45(1):28-35. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2009.03.008>
28. Yang L, Jiang L, Sui X, Wang S. Optimization of the aqueous enzymatic extraction of pie kernel oil by response surface methodology. Procedia Eng. 2011;15:4641-4652. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2011.08.872>
29. Wu J, Johnson LA, Jung S. Demulsification of oil-rich emulsion from enzyme-assisted aqueous extraction of extruded soybean flakes. Bioresour Technol. 2009;100(2):527-533. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.05.057>
30. Rosenthal A, Pyle DL, Niranjana K, Gilmour S, Trinca L. Combined effect of operational variables and enzyme activity on aqueous enzymatic extraction of oil & protein from soybean. Enzyme Microb Technol. 2001;28(6):499-509. [https://doi.org/10.1016/s0141-0229\(00\)00351-3](https://doi.org/10.1016/s0141-0229(00)00351-3)
31. Jung S, Maurer D, Johnson LA. Factors affecting emulsion stability and quality of oil recovered from enzyme assisted aqueous extraction of soybeans. Bioresour Technol. 2009;100(21):5340-5347. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.03.087>
32. Lamsal BP, Murphy PA, Johnson LA. Flaking and extrusion as mechanical treatments for enzyme-assisted aqueous extraction of oil from soybeans. J Am Oil Chem Soc. 2006;83(11):973-979. <https://doi.org/10.1007/s11746-006-5055-5>

33. Zhang SB, Wang Z, Xu SY. Optimization of the aqueous enzymatic extraction of rapeseed oil and protein hydrolysates. *J Am Oil Chem Soc.* 2007;84(1):97-105. <https://doi.org/10.1007/s11746-006-1004-6>
34. Passos CP, Yilmaz S, Silva CM, Coimbra MA. Enhancement of grape seed oil extraction using a cell wall degrading enzyme cocktail. *Food Chem.* 2009;115(1):48-53. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.064>
35. Duarte Costa HMP, Sameiro MEM. Quality of olive oil extracted using enzyme preparation. *Bol Inst do Azeite Prod Oleaginose.* 1978;6:25-38.
36. Rovaris AA, Dias CO, da Cunha IP Scaff RMC, de Francisco A, Petkowicz CLO. Chemical composition of solid waste & effect of enzymatic oil extraction on the microstructure of soybean (*Glycine max*). *Ind Crop Prod.* 2012;36(1):405-414. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.10.001>
37. Kumar SPJ, Banerjee R. Optimization of lipid enriched biomass production from oleaginous fungus using response surface methodology. *Indian J Exp Biol.* 2013;51(11):979-983.
38. Cater CM, Rhee KC, Hagenmaier RO, Mattil KF. Aqueous extraction—an alternative oilseed milling process. *J Am Oil Chem Soc.* 1974;51(4):137. <https://doi.org/10.1007/BF02639723>
39. Hagenmaier R. Aqueous processing of full-fat sunflower seeds: yields of oil and protein. *J Am Oil Chem Soc.* 1974;51(10):470-471. <https://doi.org/10.1007/BF02635157>
40. Lanzani A, Petrini MC, Cozzoli O, Gallavresi p Carola C, Jacini G. On the use of enzymes for vegetable-oil extraction, a preliminary report. *Riv Ital Sostanze Grasse.* 1975;52(7):226-229.
41. Lawhon JT, Manak LJ, Rhee KC, Lusas EW. Production of oil and protein food products from raw peanuts by aqueous extraction and ultrafiltration. *J Food Sci.* 1981;46(2):391-395. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1981.tb04868.x>

42. Rhee KC, Cater CM, Mattil KF. Simultaneous recovery of protein and oil from raw peanuts in an aqueous system. *J Food Sci.* 1972;37(1):90-93. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1972.tb03393.x>
43. Zuniga ME, Soto C, Mora A. Enzymic pre-treatment of *Guevina avellana* mol oil extraction by pressing. *Process Biochem.* 2003;39(1):51-57. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(02\)00286-8](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(02)00286-8)
44. Sharma A, Khare SK, Gupta MN. Enzyme-assisted aqueous extraction of peanut oil. *J Am Oil Chem Soc.* 2003;79(3):215-218. <https://doi.org/10.1007/s11746-002-0463-0>
45. Teixeira CB, Macedo GA, Macedo JA, da Silva LHM, Rodrigues AMC. Simultaneous extraction of oil and antioxidant compounds from oil palm fruit (*Elaeis guineensis*) by an aqueous enzymatic process. *Bioresour Technol.* 2013;129:575-581. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.057>
46. Jiang L, Hua D, Wang Z, Xu S. Aqueous enzymatic extraction of peanut oil and protein hydrolysates. *Food Bioprod Process.* 2010;88(2):233-238. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2009.08.002>
47. Kumar RR, Rao PH, Arumugam M. Lipid extraction methods from microalgae: a comprehensive review. *Front Energy Res.* 2015;2:61. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2014.00061>
48. Jessop PG, Stanley RR, Brown RA, Eckert CA, Liotta CL, Ngo TT, Pollet P. Neoteric solvents for asymmetric hydrogenation: supercritical fluids, ionic liquids, and expanded ionic liquids. *Green Chemistry.* 2003;5(2):123-128. <https://doi.org/10.1039/b211894g>
49. Swapnil DA. Ionic liquids (a review): the green solvents for petroleum and hydrocarbon industries. *Res J Chem Sci.* 2012;2(8):80-85.
50. Salem ASH, Hamid HS. Removal of sulfur compounds from naphtha solutions using solid adsorbents. *Chem Eng Technol.* 1997;20:342. <https://doi.org/10.1002/CEAT.270200511>

51. Ma C, Liu T, Yang L, Zu Y, Chen X, Zhang L, Zhang Y, Zhao C. Ionic liquid-based microwave-assisted extraction of essential oil and biphenyl cyclooctene lignans from *Schisandra chinensis* Baill fruits. J Chromatogr A. 2011;1218:8573-8580. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.09.075>
52. Heckenbach ME, Romero FN, Green MD, Halden RU. Meta-analysis of ionic liquid literature and toxicology. Chemosphere. 2016;150:266-274. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.029>
53. Phan L, Brown H, White J, Hodgsonc A, Jessop PG. Soybean oil extraction and separation using switchable or expanded solvents. Green Chem. 2009;11:53-59. <https://doi.org/10.1039/B810423A>
54. Konopka I, Roszkowska B, Czaplicki S, Tańska M. Optimization of pumpkin oil recovery by using aqueous enzymatic extraction and comparison of the quality of the obtained oil with the quality of cold-pressed oil. Food Technol Biotechnol. 2016;54(4):413–420. <https://doi.org/10.17113/ftb.54.04.16.4623>
55. Iwanaga D, Gray DA, Fisk ID, Decker EA, Weiss J, McClements DJ. Extraction and characterization of oil bodies from soy beans: a natural source of pre-emulsified soybean oil. J Agric Food Chem. 2007;55(21):8711–8716. <http://dx.doi.org/10.1021/jf071008w>
56. Tzen JTC, Cao YZ, Laurent P, Ratnayake C, Huang AHC. Lipids, proteins, and structure of seed oil bodies from diverse species. Plant Physiol. 1993;101:267–276.
56. Cosgrove DJ. Growth of the plant cell wall. Nat Rev Mol Cell Biol. 2005;6:850–861. <http://dx.doi.org/10.1038/nrm1746>
58. Pérez J, Muñoz-Dorado J, de la Rubia T, Martínez J. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicelluloses and lignin: an overview. Int Microbiol. 2002;5:53–63. <http://dx.doi.org/10.1007/s10123-002-0062-3>
59. Nikiforidis CV, Kiosseoglou V, Scholten E. Oil bodies: an insight on their microstructure – maize germ vs sunflower seed. Food Res Int. 2013;52:136–141. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.052>

60. Campbell KA, Glatz CE, Johnson LA, Jung S, de Moura JMN, Kapchie V, Murpy P. Advances in aqueous extraction processing of soybeans. J Am Oil Chem Soc. 2011;88:449–465. <http://dx.doi.org/10.1007/s11746-010-1724-5>
61. Yusoff MM, Gordon MH, Niranjana K. Aqueous enzyme assisted oil extraction from oilseeds and emulsion de-emulsifying methods: a review. Trends Food Sci Technol. 2015;41(1):60-82. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.09.003>
62. Dalal S, Raghava S, Gupta MN. Single-step purification of recombinant green fluorescent protein on expanded beds of immobilized metal affinity chromatography media. Biochem Eng J. 2008;42(3):301-307. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.07.010>
63. Suck K, Walter J, Menzel F, Tappe A, Kasper C, Naumann C, Zeidler R, Scheper T. Fast and efficient protein purification using membrane adsorber systems. J Biotechnol. 2006;121(3):361-367. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.07.023>
64. Hilbrig F, Freitag R. Protein purification by affinity precipitation. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2003;790(1-2):79-90. [https://doi.org/10.1016/s1570-0232\(03\)00081-3](https://doi.org/10.1016/s1570-0232(03)00081-3)
65. Lamsal BP, Johnson LA. Separating oil from aqueous extraction fractions of soybean. J Am Oil Chem Soc. 2007;84(8):785-792. <https://doi.org/10.1007/s11746-007-1090-0>
66. Sineiro J, Dominguez H, Nunez MJ, Lema JM. Ethanolic extraction of sunflower oil in a pulsing extractor. J Am Oil Chem Soc. 1998;75(6):753-754. <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0220-7>
67. Abdulkarim SM, Lai OM, Muhammad SKS, Long K, Ghazali HM. Use of enzymes to enhance oil recovery during aqueous extraction of *Moringa oleifera* seed oil. J Food Lipids. 2006;13(2):113-130. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4522.2006.00038.x>

68. Nyam KL, Tan CP Lai OM, Long K, Che Man YB. Physicochemical properties and bioactive compounds of selected seed oils. LWT Food Sci Technol. 2009;42(8):1396-1403. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.03.006>
69. Soto C, Concha J, Zuniga ME. Antioxidant content of oil and defatted meal obtained from borage seeds by an enzymatic-aided cold pressing process. Process Biochem. 2008;43(6):696-699. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.02.006>
70. Latif S, Diosady LL, Anwar F. Enzyme-assisted aqueous extraction of oil and protein from canola (*Brassica napus L.*) seeds. Eur J Lipid Sci Technol. 2008;110(10):887-892. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700319>
71. Virot M, Tomao V, Ginies C, Visinoni F, Chemat F. Microwave-integrated extraction of total fats and oils. J Chromatogr A. 2008;4(1196-1197):57-64. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.05.023>
72. Sineiro J, Domínguez H, Núñez MJ, Lema JM. Optimization of the enzymatic treatment during aqueous oil extraction from sunflower seeds. Food Chem. 1998;61(4):467-474. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00080-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00080-0)
73. Hagenmaier FD. Aqueous processing of full-fat sunflower seeds: Yields of oil and protein. J Am Oil Chem Soc. 1974;51(10):470-471. <https://doi.org/10.1007/BF02635157>
74. Embong MSB, Jelen P. Sulfur content of crude rapeseed oil from aqueous extraction. J Am Oil Chem Soc. 1980;57(2):75-76. <https://doi.org/10.1007/BF02674365>
75. Van Eylen D, Indrawati M, Hendrickx M, Van Loey A. Temperature and pressure stability of mustard seed (*Sinapis alba L.*) myrosinase. Food Chem. 2006;97(2):263-71. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.046>
76. Zhang S, Wang Z. Aqueous enzymatic extraction of rapeseed emulsified oil. Nongye Gongcheng Xuebao/Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering. 2006; 22(11):250-253.

77. Jiao J, Li ZG, Gai QY, Li XJ, Wei FY, Fu YJ, Ma W. Microwaveassisted aqueous enzymatic extraction of oil from pumpkin seeds and evaluation of its physicochemical properties, fatty acid compositions and antioxidant activities. *Food Chem.* 2014;147:17–24.

78. Pericin DM, Radulovic LM, Trivic SZ, Dimic EB. The use of glycohydrolase in the processing of hull-less seed variety of pumpkin in the relation to enhanced protein extraction. *Acta Period Technol.* 2006;37:163-170. <https://doi.org/10.2298/APT0637163P>

79. Ezech O, Gordon MH, Niranjana K. Effect of enzyme pre-treatments on bioactive compounds in extracted tiger nut oil and sugars in residual meals. *J Am Oil Chem Soc.* 2016;93(11):1541–1549. <https://doi.org/10.1007/s11746-016-2883-9>

80. Mariano RGDB, Couri S, Freitas SP. Enzymatic technology to improve oil extraction from *Caryocar brasiliense* camb (pequi) pulp. *Rev Bras Frutic.* 2009;31(3):637-643. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452009000300003>

81. de Moura JMLN, Campbell KA, Mahfuz A, Jung S, Glatz CE, Johnson LA. Enzyme-assisted aqueous extraction of oil and protein from soybeans and cream de-emulsification. *J Am Oil Chem Soc.* 2008;85(10):985–995. <https://doi.org/10.1007/s11746-008-1282-2>

82. de Moura JMLN, Johnson LA. Two-stage countercurrent enzyme-assisted aqueous extraction processing of oil and protein from soybeans. *J Am Oil Chem Soc.* 2009;86(3):283–289. <https://doi.org/10.1007/s11746-008-1341-8>

83. de Moura JMLN, de Almeida NM, Johnson LA. Scale-up of enzyme-assisted aqueous extraction processing of soybeans. *J Am Oil Chem Soc.* 2009;86(8):809–815. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1406-3>

84. de Moura JMLN, de Almeida NM, Jung S, Johnson LA. Flaking as a pretreatment for enzyme-assisted aqueous extraction processing of soybeans. *J Am Oil Chem Soc.* 2010;87(12):1507-1515. <https://doi.org/10.1007/s11746-010-1626-6>

85. Jung S, Mahfuz A, Maurer D. Structure, protein interactions and *in vitro* protease accessibility of extruded and pressurized full-fat soybean flakes. J Am Oil Chem Soc. 2009;86(5):475–483. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1371-x>
86. Jung S, Mahfuz AA. Low temperature dry extrusion and high-pressure processing prior to enzyme-assisted aqueous extraction of full fat soybean flakes. Food Chem. 2009;114(3):947–954. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.044>
87. Jung S. Aqueous extraction of oil and protein from soybean and lupin: A comparative study. J Food Proc Preserv. 2009;33(4):547–559. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2009.00400.x>
88. Campbell KA, Glatz CE. Mechanisms of aqueous extraction of soybean oil. J Ag Food Chem. 2009;57(22):10904–10912. <https://doi.org/10.1021/jf902298a>
89. Rosenthal A, Pyle DL, Niranjan K. Simultaneous aqueous extraction of oil and protein from soybean: mechanisms for process and design. Trans Food Bioprod Proc. 1998;76(4):224–230. <https://doi.org/10.1205/096030898532124>
90. Yoon S-H, Kim I-H, Kim S-H, Kwon T-W. Effects of enzyme treatments and ultrasonification on extraction yields of lipids and proteins from soybean by aqueous process. Korean J Food Sci Technol. 1991;23(6):673–676.
91. Kapchie VN, Wei D, Hauck C, Murphy PA. Enzymeassisted aqueous extraction of oleosomes from soybeans (*Glycine max*). J Ag Food Chem. 2008;56(5):1766–1771. <https://doi.org/10.1021/jf0721390>
92. Kapchie VN, Towa LT, Hauck C, Murphy PA. Recycling of aqueous supernatants in soybean oleosome isolation. J Am Oil Chem Soc. 2010;87(2):223–231. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1485-1>
93. Kapchie VN, Towa LT, Hauck C, Murphy PA. Evaluation of enzyme efficiency for soy oleosome isolation and ultrastructural aspects. Food Res Int. 2010;43(1):241–247. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.019>

94. Latif S, Anwar F. Physicochemical studies of hemp (*Cannabis sativa*) seed oil using enzyme-assisted cold-pressing. Eur J Lipid Sci Technol. 2009;111(10):1042–1048. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200900008>

95. Taha FS, Hassanein MM. Pretreatment of cottonseed flakes with proteases and an amylase for higher oil yields. Grasas Aceites. 2007;58(3):297-306. <https://doi.org/10.3989/gya.2007.v58.i3.186>

96. Oberoi HS, Neha B, Dhaliwal SS, Simranjeet K, Vadlani PV, Bhargav VK, Patil RT. Enhanced oil recovery by pre-treatment of mustard seeds using crude enzyme extract obtained from mixed-culture solid-state fermentation of kinnow (*Citrus reticulata*) waste and wheat bran. Food Bioproc Tech. 2012;5(2):759-767. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0380-y>

97. Rajaram MR, Kumbhar BK, Singh A, Lohani UC, Shahi NC. Optimization of parameters for enhanced oil recovery from enzyme treated wild apricot kernels. J Food Sci Technol. 2012;49(4):482–488. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0301-8>

98. Насіння овочевих, баштанних культур та кормових коренеплодів. Пакування, маркування, транспортування та зберігання. Технічні умови: ДСТУ 6006:2008 - [Чинний від 2017-07-01]. – К.: «Укрсортнасіннєовоч», 2015. – 23 с. – (Національні стандарти України).

99. Руководство по методам исследования, теххимическому контролю и учету производства в масложировой промышленности : Специальные методы анализа и теххимический контроль в производстве растительных масел / под. ред. Ржехина В.П. и Сергеева А. Г. // Л.: ВНИИЖ, 1965.– 493 с.

100. Грищук Ю.С. Основи наукових досліджень: Навч. посібник. / Ю.С. Грищук. – Харків: НТУ «ХПІ», 2008. – 232 с.

101. Математико-статистичні методи досліджень [Електронний ресурс]: метод. рекомендації до практичних занять для студ. освітнього ступеня «Магістр» спеціальності 181 «Харчові технології» денної та заочної

форм навчання. / уклад. Т. Г. Мисюра, Н.В. Попова, Ю.В. Запорожець. – К.: НУХТ, 2017. – 144 с.

102. Семена масличные. Метод определения влажности: ГОСТ-10856-96 - [Чинний від 1997-01-01]. - Минск: Стандартиформ, 1999. – 11 с. – (Міжнародний стандарт).

103. Жири тваринні і рослинні та олії. Визначення кислотного числа та кислотності (EN ISO 660:2009, IDT; ISO 660:2009, IDT): ДСТУ EN ISO 660:2019. – Введ. в дію 01.09.2019.– К.:ДП «УкрНДНЦ», 2019.

104. Жири рослинні та олії. Метод визначання пероксидного числа: ДСТУ 4570:2006. – Введ. в дію 01.01.2008.– К.: Держспоживстандарт України, 2007. – 9 с.

105. Жири тваринні і рослинні та олії. Визначення анізидинового числа (EN ISO 6885:2016, IDT; ISO 6885:2016, IDT): ДСТУ EN ISO 6885:2019. – Введ. в дію 01.09.2019.–К.: ДП «УкрНДНЦ», 2019.

106. Носенко Т. Т., Музика О. С., Циганкова Г. А., Левчук І. В., Маринченко І. О. Особливості складу олії із насіння ненаркотичних конопель вітчизняної селекції. - Наукові праці НУХТ, 2019, 25(5), с. 173-180.

107. Nosenko T, Kot T, Kichshenko V. Rapeseeds as a source of feed and food proteins. Pol J Food Nutr Sci. 2014;64:109–114. <https://doi.org/10.2478/pjfn-2013-0007>

108. ISO. International Organization for Standardization, Standard 6799:1983. Animal and vegetable fats and oils — Determination of composition of the sterol fraction — Method using gas chromatography. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 1991.

109. Жири та олії тваринні і рослинні. Вимірювання а-, b-, g-, d-токоферолів (EN12822:2000, IDT): ДСТУ EN 12822:2005. – Введ. в дію 01.07.2006. – К.: Держспоживстандарт України, 2006. – 20 с.

110. Kumar SPJ, Prasad SR, Banerjee R, Agarwal DK, Kulkarni KS, Ramesh KV. Green solvents and technologies for oil extraction from oilseeds. *Chem Cent J*. 2017;11(1):1-9. <https://doi.org/10.1186/s13065-017-0238-8>
111. Nosenko T, Vovk G, Koroluk T. Effect of hydrolytic enzymes pretreatment on the oil extraction from pumpkin seeds. *Ukr Food J*. 2019;8(1):80-88. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2019-8-1-9>
112. Kaseke T, Opara UL, Fawole OA. Effects of enzymatic pretreatment of seeds on the physicochemical properties, bioactive compounds, and antioxidant activity of pomegranate seed oil. *Molecules*. 2021;26:4575. <https://doi.org/10.3390/molecules26154575>
113. Cherstva A, Lastovetska A, Nosenko T. Using of enzymes to extract of rapeseed oil by pressing. *Ukr J Food Sci*. 2016;4:85-92.
114. Kubaychuk O, Nosenko T, Cherstva A. Optimization of enzymatic processing of rapeseed. *Int J Adv Res*. 2016;4(9):1736-40. <https://doi.org/10.21474/IJAR01/1634>
115. Latif S, Anwar F, Ashraf M. Characterization of enzyme-assisted cold-pressed cottonseed oil. *J Food Lipids*. 2007;14:424–436. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4522.2007.00097.x>
116. Bargale PC, Sosulski K, Sosulski FW. Enzymatic hydrolysis of soybean for solvent and mechanical oil extraction. *J Food Process Eng*. 2000;23(4):321-7. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2000.tb00518.x>
117. Soto C, Chamy R, Zuniga ME. Enzymatic hydrolysis and pressing conditions effect on borage oil extraction by cold pressing. *Food Chem*. 2007;102:834–840. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.014>
118. Latif S. Analytical investigations to compare the enzyme-assisted extraction of vegetable oils with conventional methods [PhD Thesis]. Faisalabad, Pakistan: University of Agriculture Faisalabad; 2009.
119. Носенко Т.Т., Черства А.О., Королюк Т.А. Вплив попередньої ферментативної обробки ріпакової м'ятки на активність ліпази та показники

- якості олій. Наукові праці НУХТ. 2017;23(5):229-235.  
<https://doi.org/10.24263/2225-2924-2017-23-5-1-28>
120. Kalia VC, Rashmi, La IS, Gupta MN. Using enzymes for oil recovery from edible seeds. J Sci Ind Res (India). 2001;60:298-310.
121. Tzen JTC. Integral proteins in plant oil bodies. ISRN Botany. 2012;2012. <https://doi.org/10.5402/2012/173954>
122. Nikiforidis CV, Matsakidou A, Kiosseoglou V. Composition, properties and potential food applications of natural emulsions and cream materials based on oil bodies. RSC Adv. 2014;4(48):25067–78.  
<https://doi.org/10.1039/c4ra00903g>
123. Nikiforidis CV. Structure and functions of oleosomes (oil bodies). Adv Colloid Interface Sci. 2019;274:102039.  
<https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.102039>
124. Tzen JTC, Huang AHC. Surface structure and properties of plant seed oil bodies. J Cell Biol. 1992;117(2):327-35. <https://doi.org/10.1083/jcb.117.2.327>
125. Ricochon G, Muniglia L. Influence of enzymes on the oil extraction processes in aqueous media. Oilseeds and fats, crops and lipids. 2010;17(6):356-9.  
<https://doi.org/10.1051/ocl.2010.0337>
126. Villa-Rivera MG, Cano-Camacho H, Lopez-Romero E, Zavala-Paramo MG. The role of arabinogalactan type II degradation in plant-microbe interactions. Front Microbiol. 2021;12:730543.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.730543>
127. Danso-Boateng E. Effect of enzyme and heat pretreatment on sunflower oil recovery using aqueous and hexane extractions. Int J Chem Biol Eng. 2011;4(1):28-34. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1327718>
128. Dominguez H, Nunez MJ, Lema JM. Oil extractability from enzymatically treated soybean and sunflower: range of operational variables. Food Chem. 1993;46:277-284. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(93\)90119-Z](https://doi.org/10.1016/0308-8146(93)90119-Z)

129. Silvamany H, Jamaliah MJ. Enhancement of palm oil extraction using cell wall degrading enzyme formulation. *Malaysian J Anal Sci.* 2015;19(1):77-87.
130. Gallier S, Tate H, Singh H. *In vitro* gastric and intestinal digestion of a walnut oil body dispersion. *J Agric Food Chem.* 2013;61:410–417. <https://doi.org/10.1021/jf303456a>
131. Li H, Zhang Z, He D, Xia Y, Liu Q, Li X. Ultrasound-assisted aqueous enzymatic extraction of oil from perilla seeds and determination of its physicochemical properties, fatty acid composition and antioxidant activity. *Food Sci Technol.* 2017;37:71-77. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.29116>
132. Agustina NA, Elisabeth J, Julianti E. A comparison studies on the chemical characteristics of pumpkin seed oil with extra virgin olive oil and palm olein. *InIOP Conf Ser: Earth Environ Sci.* 2019;260(1):012091. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/260/1/012091>
133. Andjelkovic M, Van Camp J, Trawka A, Verhe R. Phenolic compounds and some quality parameters of pumpkin seed oil. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2010;112(2):208-217. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200900021>
134. Broznic D, Canadi Juresic G, Milin C. Involvement of  $\alpha$ -,  $\gamma$ - and  $\delta$ -tocopherol isomers from pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed oil or oil mixtures in the biphasic DPPH° disappearance kinetics. *Food Technol Biotechnol.* 2016;54:200–210. <https://doi.org/10.17113/ftb.54.02.16.4063>
135. Fruhwirth GO, Hermetter A. Seeds and oil of the Styrian oil pumpkin: Components and biological activities. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2007;109(11):1128–1140. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700105>
136. Procida G, Stancher B, Catenia F, Zacchignaa M. Chemical composition and functional characterisation of commercial pumpkin seed oil. *J Sci Food Agric.* 2013;93:1035–1041. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5843>
137. Dotto JM, Chacha JS. The potential of pumpkin seeds as a functional food ingredient: A review. *Sci Afr.* 2020;10:e00575. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00575>

# ДОДАТКИ

## Додаток А

### Акт апробації результатів у навчальний процес

Міністерство освіти і науки України  
Національний університет харчових технологій

ЗАТВЕРДЖУЮ:



Ректор НУХТ

Олександр ШЕВЧЕНКО

«15» \_\_\_\_\_ 2023 р.

### АКТ

впровадження результатів науково-дослідних, дослідно-конструкторських і дисертаційних робіт у навчальний процес вищих навчальних закладів

Замовник \* Національний університет харчових технологій  
(найменування організації, установи)

Олександр ШЕВЧЕНКО  
(П.І.Б. керівника)

Дійсним актом підтверджується, що результати: дисертаційної роботи  
(найменування виду роботи)

«Удосконалення технології пресового вилучення олії за допомогою біотехнологічних методів»,  
(найменування теми, № держ. реєстрації)

виконаної Вовк Ганною Олександрівною,

виконуваної з 2019 по 2023 рр.  
(термін виконання)

впроваджені у навчальний процес кафедри технології жирів, хімічних технологій харчових добавок та косметичних засобів  
(найменування структурного підрозділу, де здійснювалось впровадження)

**1. Вид впроваджених результатів:** вилучення олії із олійної сировини з використанням попередньої ферментативної обробки на лабораторному шнековому пресі, теоретичні відомості про удосконалення технології пресового вилучення олії за допомогою біотехнологічних методів.

**2. Форма впровадження:** Інновації в технологіях олійної і косметичної галузей: Конспект лекцій [Електронний ресурс] для здобувачів освітнього ступеня «Магістр» спеціальності 181 «Харчові технології», освітньо-професійної програми «Технології рослинних олій, жирів та косметичних продуктів» денної та заочної форм навч. / Т.Т. Носенко – К.: НУХТ, 2022. – 159 с. Реєстраційний номер у НМУ :101.67- 2022.

Ензимні технології добування та переробки олій: Методичні рекомендації до вивчення дисципліни та виконання контрольної роботи для

здобувачів освітньо-наукового ступеня «Доктор філософії» спеціальності 181 «Харчові технології» освітньо-наукової програми «Харчові технології» денної та заочної форм навчання – К.: НУХТ, 2023.- 101.85-2023

**3. Новизна результатів науково-дослідної роботи:** досліджено вплив окремих ферментних препаратів та їх сумішей на мікроструктуру гарбузового насіння: встановлено, що обробка сумішшю ферментних препаратів із протеолітичною, целюлолітичною, геміцелюлолітичною та пектолітичною активністю призводить до практично повного розщеплення та зникнення клітинних стінок, руйнування олеосом та коагуляції вільної олії в мікротомному зрізі насінини. Обробка м'ятки гарбузового насіння цією ж ферментною сумішшю перед пресуванням призвела до збільшення виходу олії на 14,3 % порівняно з контрольними зразками

**4. Перелік курсів і дисциплін, у рамках яких викладені результати НДР:**  
«Інновації в технологіях олійної і косметичної галузей»

---

**5. Соціальний і науково-технічний ефект науково-дослідної роботи** полягає в розробленні технології обробки м'ятки гарбузового насіння сумішами ферментних препаратів із протеолітичною, целюлолітичною, геміцелюлолітичною та пектолітичною активністю для підвищення ефективності пресового вилучення олії.

Завідувач кафедри технології жирів,  
хімічних технологій харчових  
добавок та косметичних засобів



Тамара НОСЕНКО

14 червня 2023 р.

## Додаток Б

### Хроматограми визначення жирнокислотного складу гарбузової олії

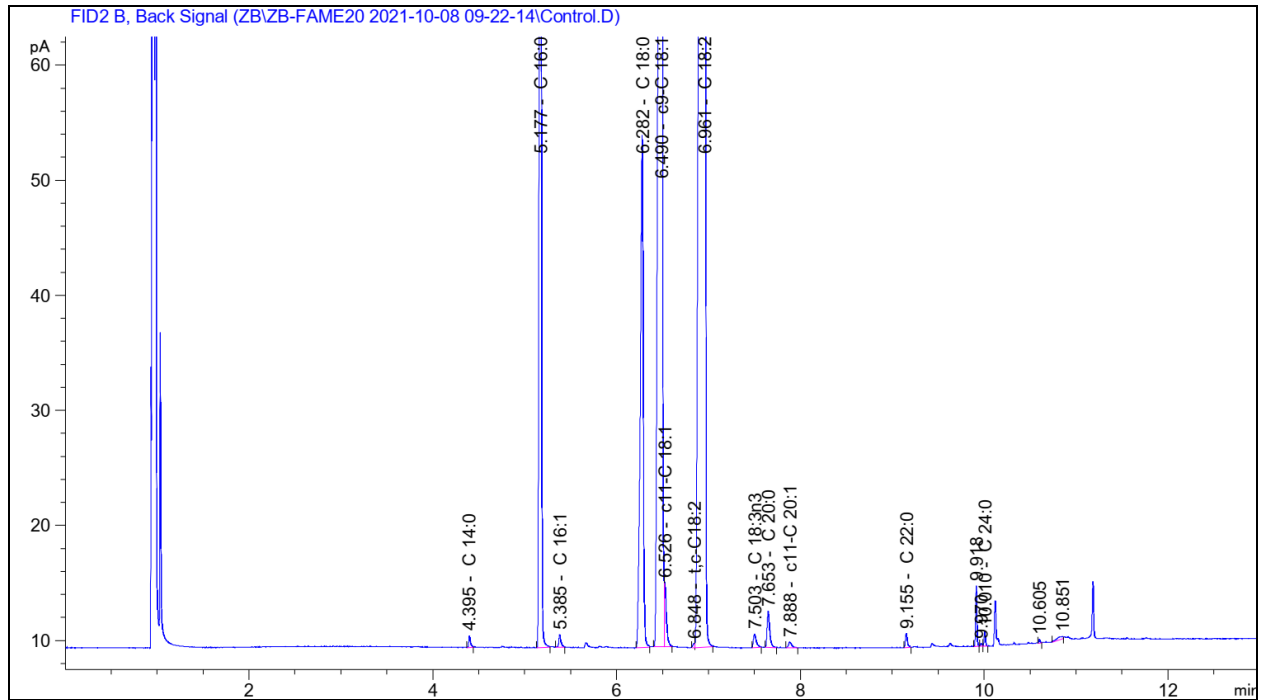


Рис. Б. 1 Хроматограма жирнокислотного складу контрольного зразка гарбузової олії

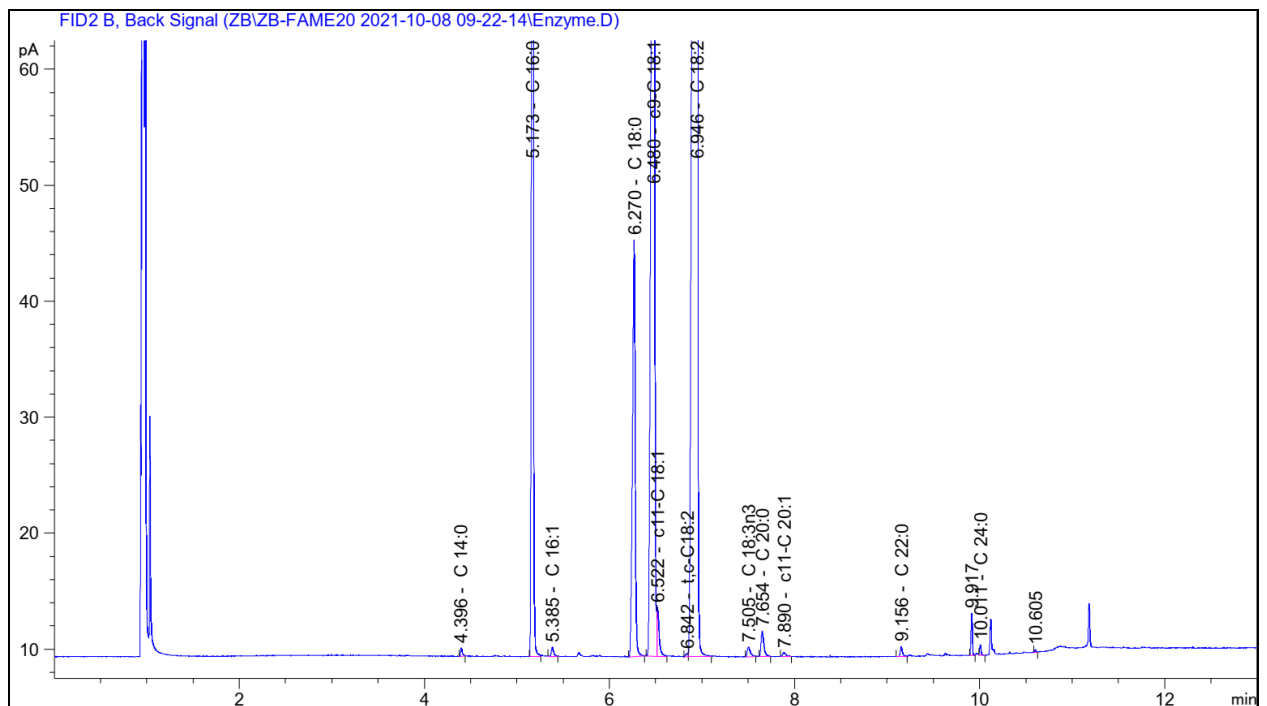


Рис. Б. 2 Хроматограма жирнокислотного складу зразка гарбузової олії після попередньої ферментативної обробки

## Додаток В

### Хроматограми визначення складу стеролів гарбузової олії

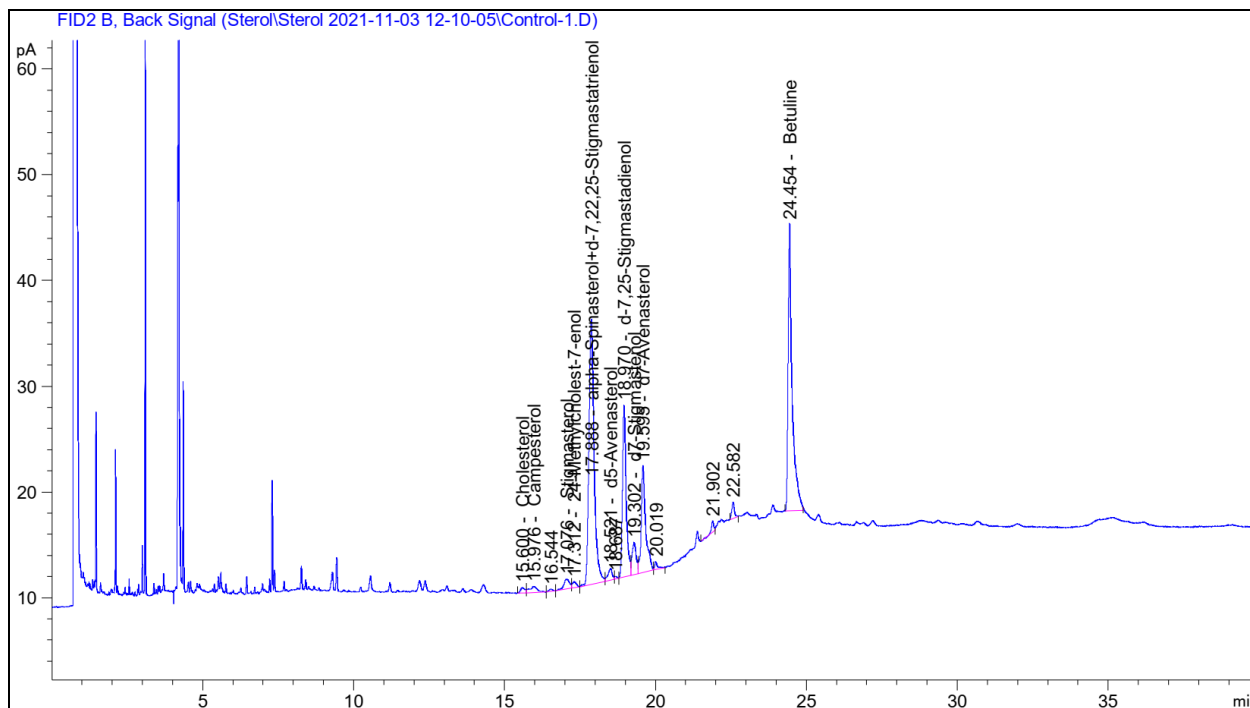


Рис. В. 1 Хроматограма складу стеролів контрольного зразка гарбузової олії

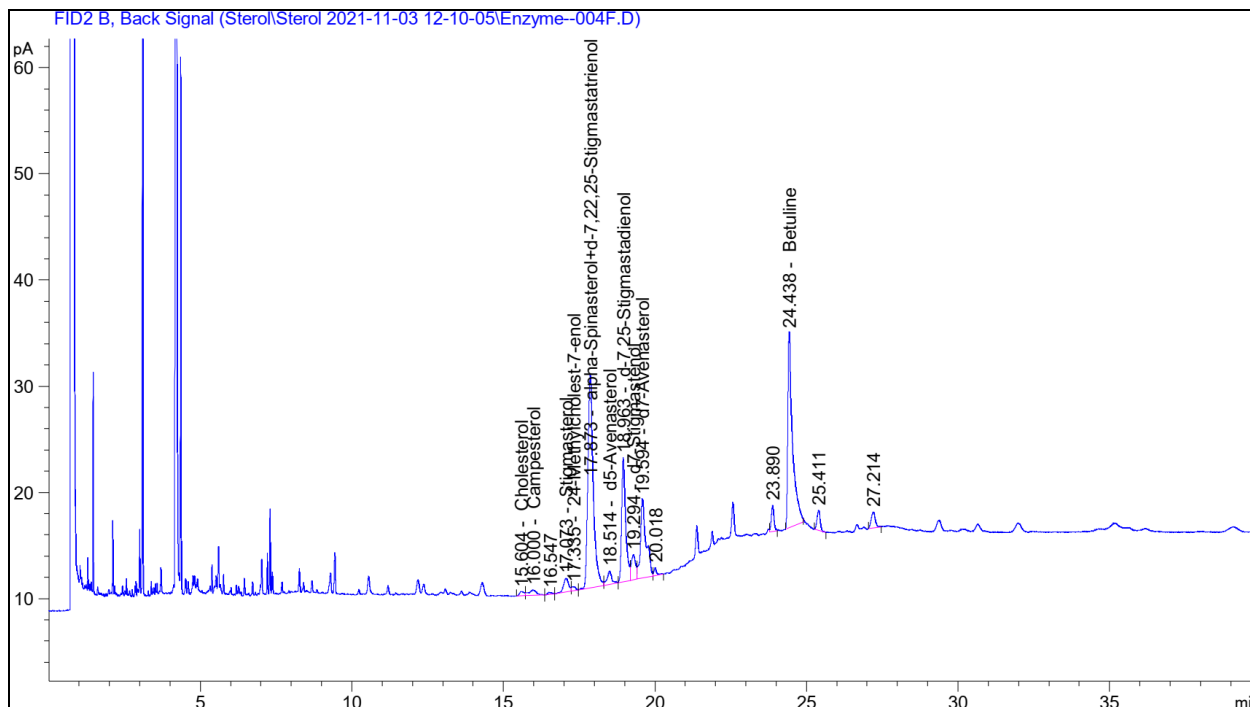


Рис. В. 2 Хроматограма складу стеролів зразка гарбузової олії після попередньої ферментативної обробки

## Додаток Г

### Розрахунок економічної ефективності

Для оцінки економічної доцільності попередньої ферментативної обробки насіння гарбуза звичайного перед пресовим видобутком з нього олії було розраховано витрати та вартість необхідної сировини і матеріалів на 1 т олії, одержаної пресовим способом із застосуванням попередньої ферментативної обробки насіння (Таблиця Г.1) та без неї (Таблиця Г.2).

Таблиця Г.1

Розрахунок витрат сировини і матеріалів на 1 т олії, одержаної пресовим способом із застосуванням обробки насіння гарбуза звичайного

Пеніцилопепсином («ЕнзимБіотех», Україна) і Целюладом («Ензим», Україна)

| Назва сировини та основних матеріалів                                   | Од. вим.        | Норма витрат ресурсу на 1т продукції | Ціна одиниці ресурсу, грн./од | Вартість сировини та основних матеріалів, грн. |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------------|--------------------------------------|-------------------------------|------------------------------------------------|
| Насіння гарбуза звичайного (початкова олійність насіння складає 40,3 %) | кг              | 1524                                 | 150                           | 228658,5                                       |
| Ферментний препарат (Пеніцилопепсин)                                    | кг              | 6,40                                 | 2000                          | 12800                                          |
| Ферментний препарат (Целюлад)                                           | кг              | 2,74                                 | 445                           | 1219,3                                         |
| Вода                                                                    | м <sup>3</sup>  | 0,53                                 | 1000                          | 530                                            |
| <b>Всього витрат, грн.:</b>                                             | <b>243207,8</b> |                                      |                               |                                                |

Таблиця Г.2

Розрахунок витрат сировини і матеріалів на 1 т олії, одержаної пресовим способом без застосування попередньої ферментативної обробки насіння гарбуза звичайного

| Назва сировини та основних матеріалів                                   | Од. вим.        | Норма витрат ресурсу на 1т продукції | Ціна одиниці ресурсу, грн./од | Вартість сировини та основних матеріалів, грн. |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------------|--------------------------------------|-------------------------------|------------------------------------------------|
| Насіння гарбуза звичайного (початкова олійність насіння складає 40,3 %) | кг              | 1669,5                               | 150                           | 250417,5                                       |
| <b>Всього витрат, грн.:</b>                                             | <b>250417,5</b> |                                      |                               |                                                |

Результати розрахунків сировини і матеріалів на 1 т олії, одержаної пресовим способом із застосуванням та без застосування обробки насіння гарбуза звичайного Пеніцилопепсином і Целюладом (Таблиці Г.1 і Г.2) свідчать, що використання обробки насіння гарбуза звичайного сумішшю цих ферментних препаратів перед пресуванням дозволяє зменшити витрати на видобуток 1 т олії на 7209,7 грн., збільшення економічного ефекту при цьому складає приблизно 3 %.

## Додаток Д

### Патенти на винахід і корисну модель



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **120692**

(13) **C2**

(51) МПК

**C11B 1/04** (2006.01)

**C11B 1/06** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

#### (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>(21) Номер заявки: <b>а 2019 00465</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>17.01.2019</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>10.01.2020</b></p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: <b>10.06.2019, Бюл.№ 11</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.01.2020, Бюл.№ 1</b></p> | <p>(72) Винахідник(и):<br/><b>Носенко Тамара Тихонівна (UA),<br/>Вовк Ганна Олександрівна (UA),<br/>Корольок Тамара Андріївна (UA),<br/>Бабенко Валерій Іванович (UA),<br/>Бахмач Володимир Олександрович (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и):<br/><b>НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ<br/>ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ,<br/>вул. Володимирська, 68, м. Київ-33, 01601<br/>(UA)</b></p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:<br/><b>PL 406194 A1, 25.05.2015<br/>CN 106367201 A, 01.02.2017<br/>CN 106978252 A, 25.07.2017<br/>RU 2072687 C1, 27.01.1997<br/>RU 2170027 C1, 10.07.2001</b></p> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

#### (54) СПОСІБ ПОПЕРЕДНЬОЇ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ ОБРОБКИ М'ЯТКИ НАСІННЯ ГАРБУЗА ЗВИЧАЙНОГО

##### (57) Реферат:

Винахід належить до харчової промисловості і може бути використаний під час переробки насіння олійних культур та отримання рослинної олії і макухи. Заявлено спосіб попередньої ферментативної обробки м'ятки насіння гарбуза звичайного, що включає очищення, подрібнення насіння, зволоження м'ятки додаванням фосфатного розчину з рН 5,0-5,2 з розчиненими в ньому з розчищеною в ньому сумішшю ферментних препаратів протеолітичної та целюлозолітичної дії у співвідношенні 7:3, відповідно, в кількості 0,58-0,62 % до маси насіння, витримання за температури 49,5-50,5 °С з періодичним перемішуванням протягом 60-120 хвилин, висушування м'ятки за температури 100-110 °С здійснюють до значення вологості м'ятки 7,0-7,5 %. Технічний результат: збільшення кількісного виходу олії на 10,5 % та підвищення її біологічної цінності за рахунок збільшення в ній вмісту токоферолів на 84,5 мкг/г.

UA 120692 C2



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **135285** (13) **U**  
(51) МПК  
**C11B 1/04** (2006.01)  
**C11B 1/08** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: **u 2019 00466**  
(22) Дата подання заявки: **17.01.2019**  
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **25.06.2019**  
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **25.06.2019, Бюл.№ 12**

(72) Винахідник(и):  
**Носенко Тамара Тихонівна (UA),  
Вовк Ганна Олександрівна (UA),  
Корольок Тамара Андріївна (UA),  
Бабенко Валерій Іванович (UA),  
Бахмач Володимир Олександрович (UA)**  
(73) Власник(и):  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ,  
вул. Володимирська, 68, м. Київ-33, 01601  
(UA)**

**(54) СПОСІБ ПОПЕРЕДНЬОЇ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ ОБРОБКИ М'ЯТКИ НАСІННЯ ГАРБУЗА ЗВИЧАЙНОГО**

**(57) Реферат:**

Спосіб попередньої ферментативної обробки м'ятки насіння гарбуза звичайного включає очищення, подрібнення насіння, зволоження м'ятки додаванням фосфатного розчину з рН 5,0-5,2 з розчиненими в ньому ферментними препаратами, в кількості 0,58-0,62 % до маси насіння, витримання за температури 49,5-50,5 °С з періодичним перемішуванням протягом 60-120 хвилин, висушування м'ятки за температури 100-110 °С, пресування. Зволоження м'ятки проводиться додаванням фосфатного розчину з розчиною в ньому сумішшю ферментних препаратів протеолітичної та целюлолітичної дії у співвідношенні 7:3 відповідно, висушування м'ятки проводять до значення вологості м'ятки 7,0-7,5 %.

**U**  
**135285**  
**UA**



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **129072** (13) **U**  
(51) МПК  
**C11B 1/04** (2006.01)  
**C11B 1/08** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: **u 2018 02519**  
(22) Дата подання заявки: **13.03.2018**  
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **25.10.2018**  
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **25.10.2018, Бюл.№ 20**

(72) Винахідник(и):  
**Носенко Тамара Тихонівна (UA),  
Корольок Тамара Андріївна (UA),  
Вовк Ганна Олександрівна (UA),  
Усатюк Світлана Іванівна (UA),  
Костінова Тетяна Андріївна (UA)**  
(73) Власник(и):  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ,  
вул. Володимирська, 68, м. Київ-33, 01601  
(UA)**

**(54) СПОСІБ ПІДГОТОВКИ ГАРБУЗОВОГО НАСІННЯ ДО ВИЛУЧЕННЯ ОЛІЇ**

**(57) Реферат:**

Спосіб підготовки гарбузового насіння до вилучення олії включає подрібнення насіння, зволоження та висушування м'ятки. Зволоження м'ятки проводиться фосфатним буферним розчином до значення вологості 50-52 % з розчиненим в ньому ферментним препаратом протеолітичної дії у кількості 0,58-0,62 %, витримування за температури 46-54 °С з періодичним перемішуванням протягом 60-120 хв.

**UA 129072 U**



МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **128202** (13) **U**  
(51) МПК (2018.01)  
**A23D 7/00**

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: **u 2018 02520**  
(22) Дата подання заявки: **13.03.2018**  
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **10.09.2018**  
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.09.2018, Бюл.№ 17**

(72) Винахідник(и):  
**Носенко Тамара Тихонівна (UA),  
Бабенко Валерій Іванович (UA),  
Вовк Ганна Олександрівна (UA)**  
(73) Власник(и):  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ,  
вул. Володимирська, 68, м. Київ-33, 01601  
(UA)**

**(54) НЕРАФІНОВАНА СОНЯШНИКОВО-КОНОПЛЯНА КУПАЖОВАНА ОЛІЯ**

**(57) Реферат:**

Нерафінована соняшниково-конопляна купажована олія містить соняшкову нерафіновану та конопляну нерафіновану олії.

**UA 128202 U**



МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **128203** (13) **U**  
(51) МПК (2018.01)  
**A23D 7/00**

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

|                                                                               |                                                                                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) Номер заявки: <b>u 2018 02521</b>                                        | (72) Винахідник(и):<br><b>Носенко Тамара Тихонівна (UA),<br/>Бабенко Валерій Іванович (UA),<br/>Вовк Ганна Олександрівна (UA)</b>   |
| (22) Дата подання заявки: <b>13.03.2018</b>                                   |                                                                                                                                     |
| (24) Дата, з якої є чинними<br>права на корисну<br>модель: <b>10.09.2018</b>  | (73) Власник(и):<br><b>НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ<br/>ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ,<br/>вул. Володимирська, 68, м. Київ-33, 01601<br/>(UA)</b> |
| (46) Публікація відомостей<br>про видачу патенту: <b>10.09.2018, Бюл.№ 17</b> |                                                                                                                                     |

**(54) СОНЯШНИКОВО-КОНОПЛЯНА КУПАЖОВАНА ОЛІЯ**

**(57) Реферат:**

Соняшниково-конопляна купажована олія містить соняшкову рафіновану дезодоровану олію та конопляну нерафіновану олію.

**UA 128203 U**

## Додаток Е

### Список наукових публікацій

1. Vovk H, Karnpakdee K, Golubets O, Levchuk I, Ludwig R, Nosenko T. Application of enzymes for pressed oil production from pumpkin seeds. Ukr Food J. 2023;12(1):21-37. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2023-12-1-4>
2. Вовк Г. О., Носенко Т. Т. Вплив параметрів ферментативної обробки на вихід пресової гарбузової олії та її властивості. Наукові праці НУХТ. 2023;29(1):108-118. DOI: 10.24263/2225-2924-2023-29-1-10
3. Патент України UA № 120692 Спосіб попередньої ферментативної обробки мятки насіння гарбуза звичайного. Автори: Носенко Т.Т., Вовк Г.О., Королюк Т.А., Бабенко В.І., Бахмач В.О. № а 201900465, заявл. 17.01.2019, опубл. 10.01.2020, Бюл. №1.
4. Nosenko T, Vovk G, Koroluk T. Effect of hydrolytic enzymes pretreatment on the oil extraction from pumpkin seeds. Ukr Food J. 2019;8(1):80-88. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2019-8-1-9>
5. Nosenko T, Koroluk T, Usatuk S, Vovk G, Kostinova T. Comparative study of walnut and pumpkin seeds oils biological value and oxidative stability. Food Sci Technol. 2019;13(1):60-65. <https://doi.org/10.15673/fst.v13i1.1311>
6. Носенко Т.Т., Вовк Г.О., Королюк Т.А., Голубець О.В. Вплив попередньої ферментативної обробки насіння на склад пресової гарбузової олії. Наукові праці НУХТ. 2018;24(5):244-251. DOI: 10.24263/2225-2924-2018-24-5-30
7. Вовк Г. О., Носенко Т. Т. Вплив ферментативної обробки на мікроструктуру насіння гарбуза голонасінного // Матеріали 88 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (м. Київ, НУХТ, квітень – травень 2022 р.). – С. 269.
8. Вовк Г. О., Носенко Т. Т. Порівняльний аналіз антиоксидантної здатності нетрадиційних олій // Матеріали 87 Міжнародної наукової

конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (м. Київ, НУХТ, 15-16 квітня 2021 р.). – С. 341.

9. Носенко Т. Т., Вовк Г. О., Гудзенко О. В. «Дослідження впливу кількості вологи, внесеної під час попередньої ферментативної обробки насіння, на ефективність вилучення пресової гарбузової олії» // Програма та тези матеріалів IX Міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції» (м. Київ, НУХТ, 10-11 листопада 2020 р.). – С. 281-282.

10. Вовк Г. О., Носенко Т. Т., Гудзенко О. В. Дослідження впливу гідролітичних ферментів із протеолітичною та ксилолітичною активністю на ефективність пресового вилучення олії з гарбузового насіння // Матеріали XIV наукової конференції молодих вчених «Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві» (м. Чернігів, 27–28 жовтня 2020 р.). – С. 138-140.

11. Вовк Г. О., Носенко Т. Т. Вплив попередньої ферментативної обробки гарбузового насіння на вихід пресової олії та її хімічний склад // Матеріали Міжнародної конференції «Якість і безпечність харчової продукції і сировини – проблеми сьогодення» (м. Львів, 25 вересня 2020 р.). – С. 207-209.

12. Носенко Т.Т., Вовк Г.О. «Дослідження впливу попередньої ферментативної обробки на склад пресової конопляної олії» // Програма та тези матеріалів VIII Міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції» (м. Київ, НУХТ, 5-6 листопада 2019 р.). – С. 397-398.

13. Носенко Т.Т., Вовк Г.О., Королюк Т.А., Голубець О.В. «Підвищення ефективності вилучення олії з олійного матеріалу за рахунок його попередньої обробки ферментами» // Програма та тези матеріалів VII Міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових

технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції» (м. Київ, НУХТ, 7-8 листопада 2018 р.). – С. 251-252.

14. Вовк Г.О., Носенко Т.Т. Вплив протеолітичних ферментів на цілісність клітин олійного матеріалу. // Матеріали 84 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у ХХІ столітті» (м. Київ, НУХТ, 23–24 квітня 2018 р.). – С. 425.

15. Патент на корисну модель UA № 135285 Спосіб попередньої ферментативної обробки мятки насіння гарбуза звичайного. Автори: Носенко Т.Т., Вовк Г.О., Королюк Т.А., Бабенко В.І., Бахмач В.О. № у 201900466, заявл. 17.01.2019, опубл. 25.06.2019, Бюл. №12.

16. Патент на корисну модель UA № 129072 Спосіб підготовки гарбузового насіння до вилучення олії. Автори Т.Т. Носенко, Г.О. Вовк, Т.А. Королюк, С.І. Усатюк, Т.А. Костінова № у 201802519, заявл. 13.03.2018, опубл. 25.10.2018, Бюл. № 20.

17. Патент на корисну модель UA № 128203 Соняшnikово-конопляна купажована олія. Автори Носенко Т.Т., Бабенко В.І., Вовк Г.О. № у 201802521, заявл. 13.03.2018, опубл. 10.09.2018, Бюл. №17.

18. Патент на корисну модель UA №128202 Нерафінована соняшnikово-конопляна купажована олія. Автори Носенко Т.Т., Бабенко В.І., Вовк Г.О. № у 201802520, заявл. 13.03.2018, опубл. 10.09.2018, Бюл. №17.

## Додаток Є

### Відомості про апробацію результатів дисертації

Основні положення і результати дисертаційної роботи оприлюднено і обговорено на:

- 88 Міжнародній науковій конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (м. Київ, 2022 р.);
- 87 Міжнародній науковій конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (м. Київ, 2021 р.);
- IX Міжнародній науково-технічній конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції» (м. Київ, 2020 р.);
- XIV науковій конференції молодих вчених «Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві» (м. Чернігів, 2020 р.);
- Міжнародній конференції «Якість і безпечність харчової продукції і сировини – проблеми сьогодення» (м. Львів, 2020 р.);
- VIII Міжнародній науково-технічній конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції» (м. Київ, 2019 р.);
- VII Міжнародній науково-технічній конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції» (м. Київ, 2018 р.);
- 84 Міжнародній науковій конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (м. Київ, 2018 р.).