



Биолог. журн. Армении, 4 (66), 2014

ВЫДЕЛЕНИЕ ИНУЛИНА ИЗ РАЗЛИЧНОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Լ.Տ. ՄԱՆՈՒԿՅԱՆ, Վ.Տ. ԿՈՇԻԿՅԱՆ, Ն.Ա. ԱՆԴՐԵԱՍՅԱՆ,
Կ.Բ. ԱՓՅԱՆ, Ա.Մ. ԲԱԼԱՅԱՆ

НПЦ „Армбиотехнология“, НАН РА
balayan49@yandex.com , vahe-ghochikyan@yandex.ru

Разработан усовершенствованный метод получения инулина из различного растительного сырья, позволяющий повысить выход и чистоту конечного продукта. Показано, что оптимальными условиями для экстракции инулина являются pH 6,5 и температура -75⁰С. Наиболее предпочтительным сырьём для получения инулина являются клубни топинамбура. Методом ВЭЖХ определено содержание органических кислот в экстрактах клубней топинамбура, корнеплодах цикория и луковичах чеснока. Показано, что количественный состав органических кислот у разных видов растений различный.

Топинамбур – цикорий – чеснок – инулин – фруктаны

Կատարելագործվել է ինուլինի ստացման մեթոդը տարբեր բուսական հումքից, որը թույլ է տալիս բարձրացնել վերջնանյութի մաքրությունն ու ելքը:

Ցույց է տրվել, որ ինուլինի լուծամզման համար օպտիմալ պայմաններն են pH 6,5 և t 75⁰С: Ինուլինի ստացման համար նախընտրելի հումք են հանդիսանում գետնախնձորի պալարները: ԲԱՂՁ մեթոդով գետնախնձորի պալարների, եղերդակի և սխտորի լուծամզվածքներում որոշվել է օրգանական թթուների քանակը: Ցույց է տրվել, որ բույսերի տարբեր տեսակների մոտ օրգանական թթուների քանակական կազմը տարբեր է:

Գետնախնձոր – եղերդակ – սխտոր – ինուլին – ֆրուկտաններ

An improved technique for obtaining inulin from various vegetable raw materials allowing to increasing the yield and purity of the final product was developed. It was shown that the optimal conditions for the inulin extraction are pH 6.5 and -75⁰С. The most preferable raw materials for the obtaining inulin are tubers of topinambour. The content of organic acids in the extractions of topinambour tubers, chicory rootstocks and garlic bulbs was defined by HPLC. It was shown that the quantitative composition of organic acids is different in various types of plants.

Topinambour – chicory – garlic – inulin – fructans

Инулин – природный полисахарид растительного происхождения, состоящий из остатков D-фруктофуранозы (фруктозы), связанных β-2,1 связями, и оканчивающийся α-D-глюкопиранозным остатком (глюкозой) со средней молекулярной массой 3500-5000.

Как и все полифруктаны, инулин имеет ряд общих свойств: угол вращения отрицательный, восстанавливающая способность очень низкая, гигроскопичен,

растворим в горячей воде, очень легко карамелизуется. Инулины различаются длиной полимерной цепи. Так, существуют инулины низкомолекулярные (средняя степень полимеризации 10 и ниже) и высокомолекулярные (средняя степень полимеризации 20 и выше до 35). Свойства низкомолекулярных и высокомолекулярных инулинов существенно различаются. Низкомолекулярные инулины слегка сладковаты и хорошо растворяются в холодной воде, а высокомолекулярные имеют нейтральный вкус и с трудом растворяются даже при кипячении. Общеизвестен тот факт, что чем выше степень полимеризации, тем выше биологическая активность инулина.

Подобно крахмалу, инулин служит запасным углеводом, встречается во многих растениях, главным образом семейства сложноцветных, а также колокольчиковых, лилейных и фиалковых. Известно более 3500 видов растений, содержащих инулин [4, 8, 13].

Содержание инулина в цикории и топинамбуре доходит до 20%, в корнях одуванчика, пастернаке, овсяном корне, клубнях георгины, луке-порее до 15%, репчатом луке 2-6%, спарже 10-15%, девясиле 9-12%, банане 0,3-0,7%, пшеничной и рисовой муке 1-4% [2, 3, 5, 15].

Инулин - самый широко используемый в промышленных условиях пребиотик в мире. Мировой объем производства инулина – 100 тыс. тонн в год. Практически весь промышленный инулин получают из корнеплодов цикория, а не топинамбура, хотя содержание инулина в них приблизительно одинаково.

Инулин, являясь антикоагулянтом, предотвращает образование кровяных сгустков, снижает уровень холестерина, триглицеридов и фосфолипидов, принимающих участие в образовании атеросклеротических бляшек. Он улучшает усвояемость магния, углеводный и липидный метаболизм и нормализует уровень сахара в крови у больных сахарным диабетом. Употребление инулина значительно повышает количество бифидобактерий в кишечнике и снижает количество патогенных бактерий [6, 16].

Разрабатываются способы получения из инулина и фруктозанов гидроксиметилфурфурола (ГМФ) и его производных как исходного вещества для химического синтеза разнообразных соединений. Наиболее ценными продуктами, вырабатываемыми на основе ГМФ, являются фармацевтические препараты, краски, полимеры, полупроводники, фотопроводники, жидкие кристаллы, фотохромные материалы для оптоэлектроники [9, 10].

Целью нашей работы было получение инулина из различного растительного сырья, а также повышение качества и выхода конечного продукта.

Материал и методика. Инулин получали из клубней топинамбура, корнеплодов цикория и луковиц чеснока. Содержание инулина определяли по методу Ермакова с некоторыми модификациями [7].

Количество гидролизованного инулина определяли с использованием тиобарбитуровой кислоты. Редуцирующие вещества определяли методом Шомоди-Нельсона [14, 17]. Глюкозу и фруктозу определяли по Бергмайеру [12].

Экстракцию низкомолекулярных углеводов проводили 82%-ным этанолом при 45⁰С в течение 15 мин.

Содержание органических кислот определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на приборе „Water Separations Modul 2695„ (США).

Результаты и обсуждение. Клубни топинамбура тщательно промывали и измельчали до размеров частиц порядка 2,0 мм. Определяли оптимальное соотношение растительной биомассы и воды, оптимальную температуру, pH и продолжительность термообработки сырья.

На 100 г измельчённого сырья добавляли различное количество воды и при интенсивном перемешивании оставляли в течение 48 ч при температуре 20-22 °С. После этого экстракт фильтровали и в фильтрате определяли общее количество экстрагированных сахаров. Исходя из полученных данных, выбрано оптимальное соотношение растительной биомассы и воды 1 : 2. Для ускорения процесса экстракции в зависимости от температуры сырьё обрабатывали при различных температурах от 45 до 75°С (шаг варьирования 5°С). Полученные данные показали, что при низкой температуре (45-50°С) экстрагируется 50% общего количества инулина, а при температуре 70-75°С процесс экстракции протекает почти полностью. Экстракцию инулина проводили при различных рН (4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0) с целью определения оптимальных условий. Полученные данные показали, что при кислых и щелочных условиях экстракции выход инулина составляет 40-45%, в то время как при рН 6,0-6,5 выход инулина значительно увеличивается.

Таким образом, для эффективного осуществления экстракции на 1кг измельченных клубней (корнеплодов или луковиц) добавляли 2 л дистиллированной воды (рН-6,5) и при постоянном перемешивании выдерживали в течение 30 мин при температуре 70-75°С. При этом экстракт получается окрашенным. Для устранения этого недостатка нами разработан способ осветления и рафинирования полученного экстракта. Для этого в экстракционную воду добавляли 0,1% SO₂ в виде сернистой кислоты (H₂SO₃). При этом экстракт получается практически бесцветным, не содержит фенольных компонентов, но имеет определённое количество белковых соединений. Далее на фильтрат добавляли CaCO₃ до рН – 11 при перемешивании и выпавший осадок отделяли центрифугированием. Надосадочную жидкость с концентрацией инулина 10-12% обесцвечивали активированным углем (10-15 г угля на 1л жидкости) при 70-75°С, перемешивая в течение 20-30 мин. Экстракт получается бесцветным и не содержит белковых компонентов. Затем концентрировали под вакуумом с получением концентрата, содержащего 50-55% сухих веществ (СВ по шкале Брикса). Концентрат охлаждали и обрабатывали 96%-ным этиловым спиртом при соотношении концентрат : этанол 1 : 2. Полученный осадок фильтровали, промывали холодной дистиллированной водой и высушивали [1]. Выделение инулина из корнеплодов цикория и луковиц чеснока проводили по вышеописанному методу.

Экстракция инулина представлена в виде схемы (рис. 1).

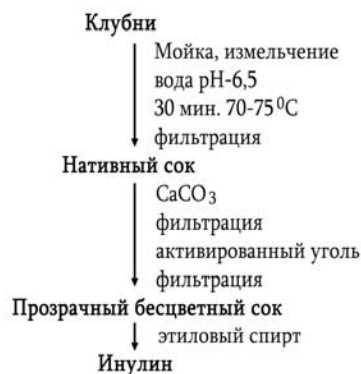


Рис. 1. Схема выделения инулина

Выход инулина при использовании клубней топинамбура составлял 82%, при использовании цикория-18%.

При выделении инулина из луковиц чеснока после осаждения спиртом в осадке обнаруживали низкомолекулярные фруктаны. Для повышения качества целевого продукта необходимо было вторичное осаждение этиловым спиртом. Выход инулина составлял всего 4,6%. Большое количество низкомолекулярных фруктанов, содержащихся в чесноке, значительно усложняло процесс выделения инулина (табл. 1).

Таблица 1. Выход инулина из растительного сырья

Растительное сырьё	Содержание инулина в сырье, % (от веса корней)	Выход инулина, % (от содержания в сырье)	Содержание моносахаридов в конечном продукте, %
Чеснок	23,8	4,6	0,037
Цикорий	14,6	18	0,032
Топинамбур	11,5	82	0,025

Таким образом, наиболее предпочтительным сырьем для получения инулина являются клубни топинамбура.

В экстрактах топинамбура, цикория и чеснока определяли наличие органических кислот методом ВЭЖХ. Использовали колонку Altima C-8, 5μ, 250 мм x 4,6 мм со скоростью потока 1мл/мин (детектор УФ 210нм, элюент вода-метанол-ацетонитрил 99:0,5:0,5 об./об.) (табл. 2).

Таблица 2. Содержание органических кислот в экстрактах исходного сырья

	Органические кислоты	Концентрация, мг/мл		
		Экстракты		
		топинамбура	цикория	чеснока
1	Аспарагиновая	1,753±0,24	0,616±0,02	2,675±0,17
2	Щавелевая	1,073±0,09	1,431±0,05	0,416±0,02
3	Винная	2,322±0,21	0,137±0,01	0,936±0,05
4	Яблочная	1,141±0,07	1,537±0,11	9,237±0,51
5	Лимонная	1,326±0,09	0,956±0,05	1,104±0,09
6	Янтарная	0,017±0,01	0,141±0,1	0,141±0,01
7	Фумаровая	0,121±0,01	0,011±0,00	0,007±0,00

Как видно из табл. 2, в экстракте топинамбура содержится больше винной, аспарагиновой и лимонной кислот, в экстракте цикория – яблочной и щавелевой, а в экстракте чеснока – яблочной и аспарагиновой кислот. Аспарагиновая кислота играет важную роль в обмене азотистых веществ, участвует в образовании пиримидиновых оснований и мочевины. Щавелевая кислота способствует усвоению кальция, стимулирует перистальтическую функцию кишечника. Винная кислота является сильным антиоксидантом и биостимулятором. Яблочная кислота способствует усвоению из пищи железа и включению его в гемоглобин. Лимонная кислота участвует в процессе очищения организма от вредных веществ, лишняя солей, улучшает зрение, сжигает углеводы, повышает иммунитет, также способствует выведению токсинов через клетки кожи. Особо ценное свойство органических кислот – их способность нормализовать кислотно-щелочное равновесие организма. В крови короткие фруктозные фрагменты инулина и органические кислоты также выполняют антиоксидантные и антитокические функции, уменьшая тяжесть состояния больных сахарным диабетом.

Таким образом, предложенный нами метод получения инулина из различного растительного сырья, в частности из клубней топинамбура, позволяет повысить выход целевого продукта до 82%, что значительно выше по сравнению с имеющимися литературными данными, и снизить содержание в нём количества моносахаридов до 0,025%.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Абелян В.А., Манукян Л.С., Африкян Э.Г.* Получение фруктозо-глюкозного сиропа из инулинсодержащего сырья с применением иммобилизованных клеток дрожжей. Прикладная биохимия и микробиология. 34, 5, с. 544-548, 1998.
2. *Голубев В.Н., Кувев В.П., Гончаров Н.И.* Биотехнологические аспекты переработки топинамбура. Пищевая промышленность. 9, с. 52-53, 1991.
3. *Голубев В.Н., Пасько Н.М., Волкова И.В.* Топинамбур – пищевой биоэнергетический и экологосберегающий ресурс. Хранение и переработка сельхозсырья. 5, с. 41-46, 1994.
4. *Ковалева Т.А., Холявка М.Г.* Активность иммобилизованной инулиназы при непрерывном гидролизе экстракта топинамбура (*Helianthus tuberosus*). Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация, 5, с. 104-107, 2008.
5. *Корнеева О.С.* Карбогидразы: препаративное получение, структура и механизм действия на олиго- и полисахариды. Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та, 184 с., 2001.
6. *Оганесян Г.Г., Барсесян А.А., Акопян В.П., Оганесян С.С., Марутян А.В.* Усвоение пребиотиков природного и синтетического происхождения штаммом *Lactobacillus acidophilus* EP 307/412 „НАРИНЕ“, in vitro. Биолог. журн. Армении, 2, 64, с. 67-72, 2012.
7. *Петров К.П.* Практикум по биохимии пищевого растительного сырья. М., Пищевая промышленность, с. 203-204, 1965.
8. *Сумин Ю.А.* Программа „Топинамбур“, – стратегический ресурс России. Наша власть, 61, 3, с. 42-43, 2006.
9. *Фисенко М.О.* Разработка способов получения и контроля качества полифункциональных композиций для напитков с антиоксидантными свойствами. Автореферат диссертации на соискание ученой степени ктн, Ставрополь, с. 20, 2012.
10. *Хохлова Е.А.* Разработка нового подхода спектроскопии ЯМР для изучения конверсии углеводов в 5- гидроксиметилфурфурол в среде ионных жидкостей. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кхн, М., с. 22, 2013.
11. *Шаззо Р.И., Екутеч Р.И., Кондратенко В.В., Кутин Г.А.* Способ получения инулинсодержащего раствора из топинамбура. Патент РФ № 2493171, с. 4, 2012.
12. *Bergmeyer H.U., Bernt E., Schmidt F., Stork H.*: D-Glucose: Determination with hexokinase and glucoses-phosphate dehydrogenase in Method of Enzymatic Analysis (2nd ed), edited by Bergmeyer H.U. New-York. Academic Press. 3, pp. 1196-1201, 1974.
13. *Carpita N. C., Kanabus J., Housley T.L.* Linkage structure of fructans and fructan oligomers from *Triticum aestivum* and *Festuca arundinacea* leaves. J. Plant Physiol., 134, 2, pp. 162-168, 1989.
14. *Nelson N.* A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem., 153, 2, pp. 375-380, 1944.
15. *Park J.P., Kim D.H., Kim D. S. Yun J.W.* Enzymatic production of inulo-oligosaccharides from chicory juice. Biotechnology. Letters., 20, pp. 385-388, 1998.
16. *Roberfroid M.B.* Prebiotics and probiotics: are they functional foods? Am. J. Clin. Nutr. Suppl., 71, 6, pp. 1682-1687, 2000.
17. *Somogyi M.* Notes on sugar determination. J. Biol. Chem., 195, 1, pp. 19-23, 1952.

Поступила 29.06.2014