

УДК 664.137

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА  
ФЕРМЕНТАЦИИ ИНУЛИНА ПРИ  
ПРОИЗВОДСТВЕ ФРУКТОЗО-  
ГЛЮКОЗНОГО СИРОПА**Назаренко Максим Николаевич  
аспирантБархатова Татьяна Викторовна  
д.т.н., профессорКожухова Марина Александровна  
к.т.н., доцентДроздов Роман Анатольевич  
студент  
*Кубанский государственный технологический  
университет, Краснодар, Россия*

Исследовано изменение массовой доли редуцирующих сахаров в экстрактах инулина в процессе гидролиза. Установлено влияние температуры, рН субстрат и времени гидролиза на активность ферментативного препарата «Биобар К-1». Определены оптимальные технологические параметры проводимого процесса

Ключевые слова: ИНУЛИН, ФРУКТОЗО-  
ГЛЮКОЗНЫЙ СИРОП, ФЕРМЕНТАЦИЯ

UDK 664.137

**RESEARCH OF FERMENTATION INULIN IN  
THE MANUFACTURE FRUCTOSE-GLUCOSE  
SYRUP**Nazarenko Maxim Nikolaevich  
postgraduate studentBarkhatova Tatiana Victorovna  
Dr.Sci.Tech., professorKozhykhova Marina Alexandrovna  
Cand.Tech.Sci., senior lecturerDrozдов Roman Anatolevich  
student  
*Kuban State Technological University, Krasnodar,  
Russia*

In the article we have investigated the variation mass proportion of reducing sugars in the extracts in hydrolysis of inulin. The influence of temperature, pH and substrate hydrolysis time on the activity of enzyme preparation "Biobar K-1." We have also determined the optimal technological parameters of the process

Keywords: INULIN, FRUCTOSE-GLUCOSE  
SYRUP, FERMENTATION

В последние время в пищевой промышленности широкое применение находят натуральные подсластители, получаемые из нетрадиционного растительного сырья – стевии, цикория и топинамбура, которые применяют для формирования вкуса, обогащения пищевых продуктов биологически активными веществами и придания им функциональных свойств.

Одним из таких подсластителей, обладающих функциональными свойствами, является фруктозо-глюкозный сироп (ФГС). Он представляет собой высококонцентрированный гидролизованный растительный экстракт с массовой долей сухих веществ от 50 до 75 %. В зависимости от вида сырья и технологии получения соотношение содержания фруктозы/глюкозы в сиропе варьирует от 55/45 до 95/5% [5]. Кроме фруктозы и глюкозы сиропы могут содержать сопутствующие

биологически активные вещества: олигосахариды, аминокислоты, минеральные элементы, витамины.

Особую ценность ФГС представляет для больных сахарным диабетом, снижая потребность в инсулиновых препаратах и стабилизируя уровень сахара в крови человека.

Содержание в составе ФГС фруктоолигосахаридов придает ему пребиотические свойства, поэтому он может быть рекомендован к использованию при восстановлении функции желудочно-кишечного тракта, при расстройствах неясной этиологии и при проявлениях дисбактериоза.

Как иммуностимулирующий продукт ФГС рекомендуется для повышения работоспособности и жизненного тонуса организма для людей умственного и физического труда, особенно в условиях неблагоприятной экологической среды проживания.

Наличие в составе ФГС аминокислот и минералов обуславливает его эффективное использование в качестве физиологически активного биогенного компонента не только в пищевых продуктах, но и косметических средствах: шампунях, кремах и лосьонах.

ФГС более технологичен по сравнению с обычным сахаром, т.к. не требует проведения операций просеивания, магнитной сепарации, легко перекачивается, дозируется, растворяется, не вызывает засахаривания продуктов.

Благодаря широкому спектру технологических и функциональных свойств ФГС получил широкое распространение в промышленно развитых странах. Его используют в производстве напитков, мороженого, йогуртов, мучных кондитерских изделий, салатных заправок и других продуктах питания, а также в фармацевтической промышленности. ФГС является не только полноценным заменителем сахара, но и имеет перед ним ряд преимуществ – более низкую стоимость (на 10 - 40 %), быстрее

усваивается организмом, его применение позволяет снизить на 1/3 калорийность разнообразных пищевых продуктов и напитков.

ФГС широко признан на мировом рынке, т.к. по своим свойствам (сладость, пищевая ценность и др.) он конкурирует со свекловичным и тростниковым сахаром. Для примера, к 2010 году объем мирового рынка ФГС достиг 13,6 млн. тонн (по сухому веществу). Крупнейшим потребителем является Североамериканский регион (США, Канада, Мексика) – на их долю приходится свыше 70 %. В перспективе ожидается, что к 2015 году объем мирового рынка ФГС составит 15,2 млн. тонн (по сухому веществу).

В России рынок ФГС практически отсутствует. Объем потребления в 2010 году оценивается приблизительно в 14,4 тыс. тонн (по сухому веществу). Причины недостаточной популярности ФГС по сравнению, например, с патоками несколько: исторически доступные цены на сахар, недостаточная осведомленность и инертность потенциальных потребителей, но главным сдерживающим фактором является отсутствие внутреннего производства.

В связи с этим, актуальной задачей является создание и реализация технологий, позволяющих наладить отечественное производство ФГС с оптимальным соотношением цены и качества.

В настоящее время ФГС получают тремя способами: 1) гидролизом сахарозы и инулина; 2) трехстадийным ферментативным путем из крахмала; 3) изомеризацией глюкозы.

Гидролиз сахарозы на фруктозу и глюкозу осуществляется под действием  $\beta$ -фуранозидазы, обеспечивающей образование инвертного сахара, в котором фруктоза и глюкоза находятся в эквимолекулярном соотношении.

Получение ФГС из инулина возможно путем кислотного или ферментативного гидролиза. При кислотном гидролизе в качестве

катализатора используют минеральные или органические кислоты: серную, соляную, щавелевую, лимонную и др., которые могут попадать в конечные продукты. К тому же, при производстве необходимо применять специальное кислотоустойчивое оборудование. Zittan L. показал, что при гидролизе инулинсодержащего сырья с помощью фосфорной кислоты среди побочных продуктов реакции выделяются красящие соединения, ухудшающие товарные качества фруктозы [1, 3].

Ферментный гидролиз предпочтительнее кислотного, т.к. является экологически более чистым и при этом не образуются побочные продукты, которые усложняют выделение и очистку фруктозы.

Производство фруктозы из крахмала ферментативным путем состоит из нескольких этапов и требует наличие трех различных ферментов:  $\alpha$ -амилазы, глюкоамилазы и глюкоизомеразы. При этом получают 45 % фруктозный сироп. В случае применения инулиназы для расщепления инулинсодержащего сырья в одностадийном процессе получают конечный продукт – 95 % фруктозный сироп.

Применение трехстадийной ферментативной обработки значительно увеличивает время производства и существенно снижает рентабельность продукции [1, 2].

На сегодняшний день наиболее перспективным способом получения ФГС считается ферментативный гидролиз полифруктозанов, извлекаемых из растительного сырья.

Гидролиз инулина осуществляют с помощью ферментативных препаратов экзо-, эндоинулазы и инвертазы. Выбор ферментативного препарата и условий ферментации позволяет не только получить высококачественный продукт, но и организовать технологический процесс наиболее рациональным и эффективным способом.

Основными источниками инулина для производства ФГС служат такие виды сырья как цикорий и топинамбур. Цикорий пока не нашел

широкого распространения в России, в то время как топинамбур, благодаря холодо- и засухоустойчивости, произрастает повсеместно. Важным преимуществом топинамбура является возможность выращивания экологически безопасным способом. Отечественными селекционерами выведены сорта, имеющие правильную геометрическую форму и предназначенные для промышленной переработки.

В связи с этим, нами исследована возможность получения инулина и ФГС из клубней топинамбура отечественных сортов: «Интерес», «Скороспелка» и топинсолнечника «Новость ВИРа». Предложено экстрагирование инулина проводить с применением вибрационного воздействия [6], полученный экстракт фракционировать с помощью мембранных методов и получать из высокомолекулярной углеводной фракции товарный инулин, а из низкомолекулярной – ФГС. Ранее было установлено, что низкомолекулярные фракции эффективно гидролизуются ферментом инвертазой.

Цель данной работы – определить оптимальные условия гидролиза низкомолекулярных фракций экстракта инулина ферментным препаратом инвертазы.

Объектами исследований служили: клубни топинамбура сорта «Интерес» осеннего урожая 2013 года, полученные из них инулинсодержащие экстракты; комплексный ферментный препарат «Биобар К-1», содержащий в качестве активного вещества  $\beta$ -фруктофуранозидазу (инвертазу), полученную из штамма дрожжей *Sacharomyces cerevisiae*.

Для извлечения инулина клубни топинамбура подвергали мойке, очистке, бланшированию и измельчению до частиц величиной около 1 мм. Полученную мезгу подвергали однократному экстрагированию водой с применением вибрационного воздействия частотой 23,4 Гц и амплитудой 5 мм на специально изготовленной лабораторной установке.

Подробное описание способа и условий экстрагирования приведены в работе [6].

Экстракты отделяли от осадка и фракционировали методом ультра- и нанофильтрации на мембранах с селективностью 10; 5 и 1 kDa.

Фракция I содержала преимущественно белковые вещества, фракция II – высокомолекулярный инулин (полифруктозаны), фракция III – низкомолекулярный инулин (олигофруктозиды).

Фракцию III использовали для ферментативного гидролиза с целью получения ФГС. Ферментативную обработку проводили препаратом инвертазы в биореакторе «Readleys» (Англия), варьируя условиях реакции. Концентрирование субстрата осуществляли в тонком слое на установке «Laborota 20» (Германия).

Об эффективности ферментной обработки судили по нарастанию редуцирующих сахаров в среде, которые определяли феррицианидным методом [6].

Обработку результатов исследований осуществляли методами математической статистики с использованием пакетов прикладных компьютерных программ Microsoft Office Excel – 2007 и Statistica 10.0.

На первом этапе исследовали кинетику ферментативного гидролиза при различных концентрациях субстрата и фермента. Ферментативную обработку проводили при температуре 55 °С и pH=5,5 согласно рекомендациям производителя препарата «Биобар К-1». Концентрацию субстрата варьировали от 3 до 23 %, фермента - от 0,005 до 0,05 %. Результаты исследований приведены на рисунках 1-5.

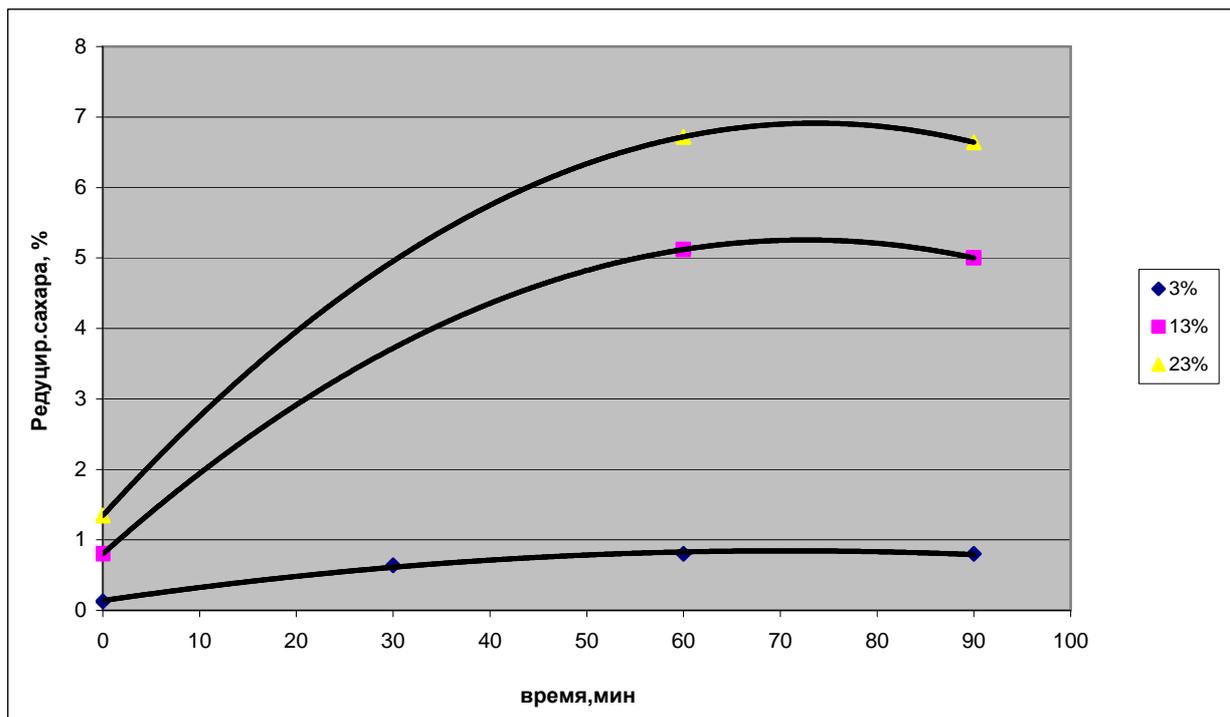


Рисунок 1 – Содержание редуцирующих сахаров в зависимости от времени ферментации при различных концентрациях субстрата (3; 13 и 23 %) и концентрации фермента 0,05 %

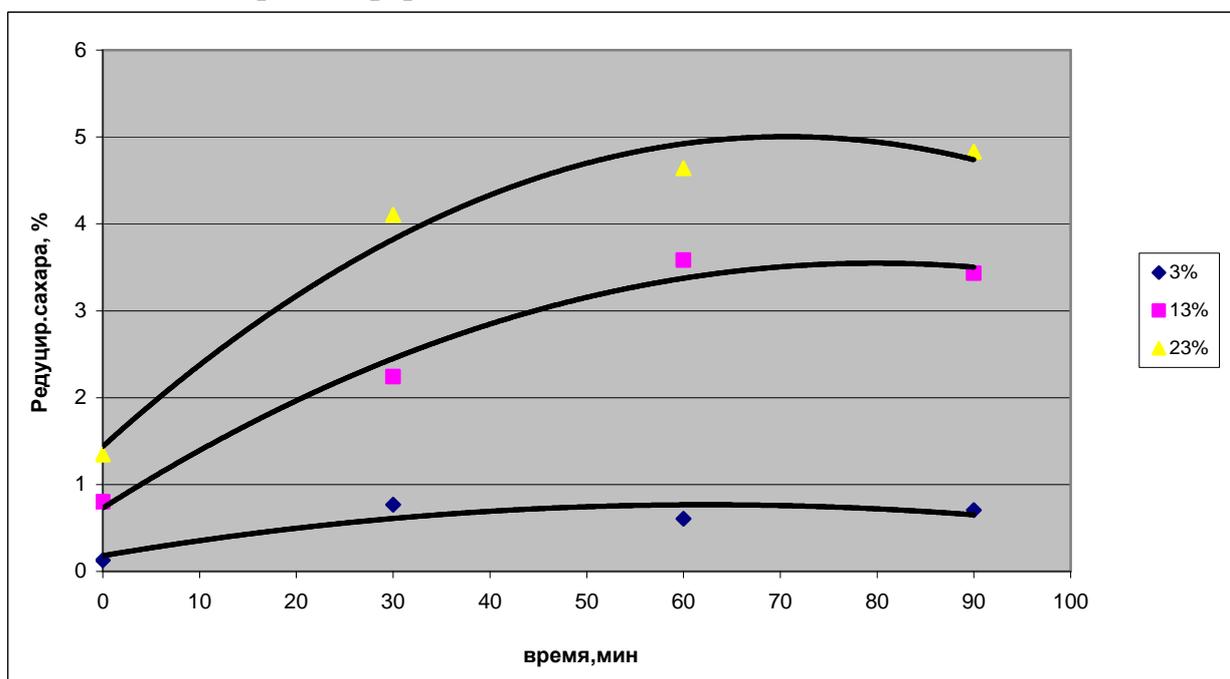


Рисунок 2 – Зависимость массовой доли редуцирующих сахаров от времени ферментации при различных концентрациях субстрата (3; 13 и 23 %) и концентрации фермента 0,025 %

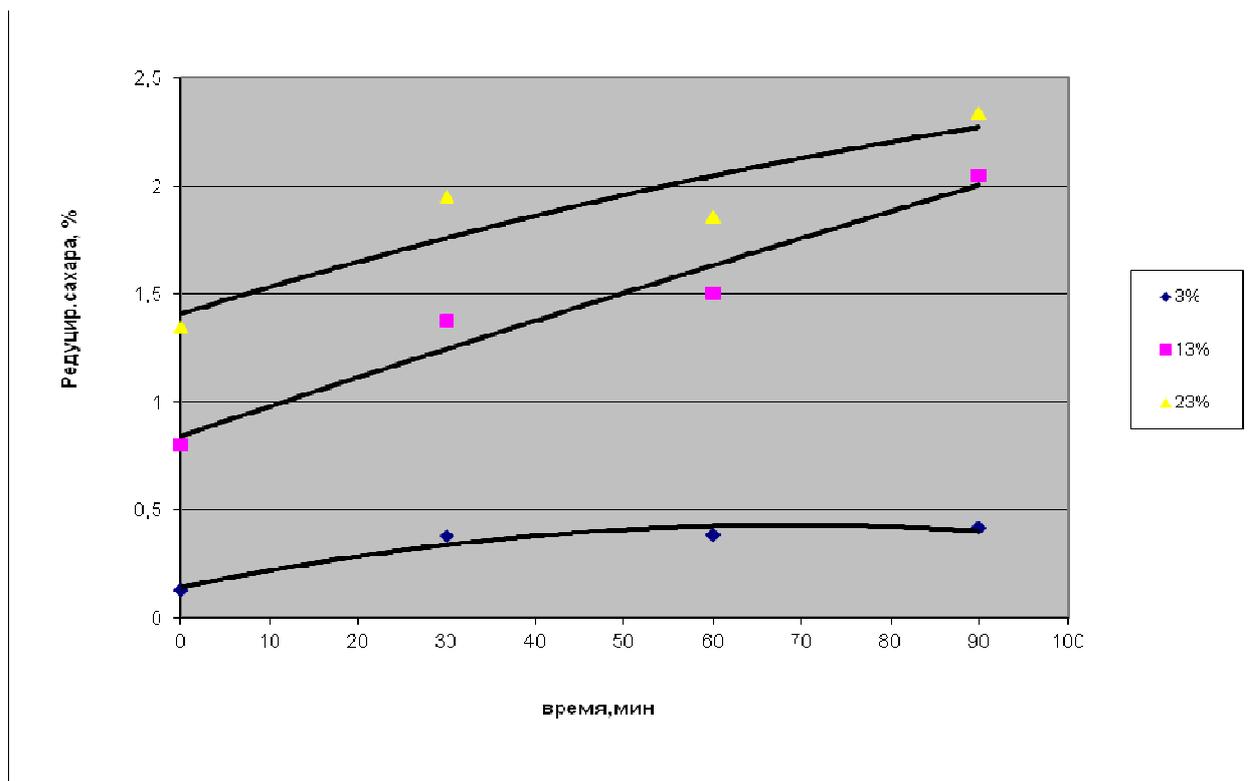


Рисунок 3 – Зависимость массовой доли редуцирующих сахаров от времени ферментации при различных концентрациях субстрата (3; 13 и 23 %) и концентрации фермента 0,005 %

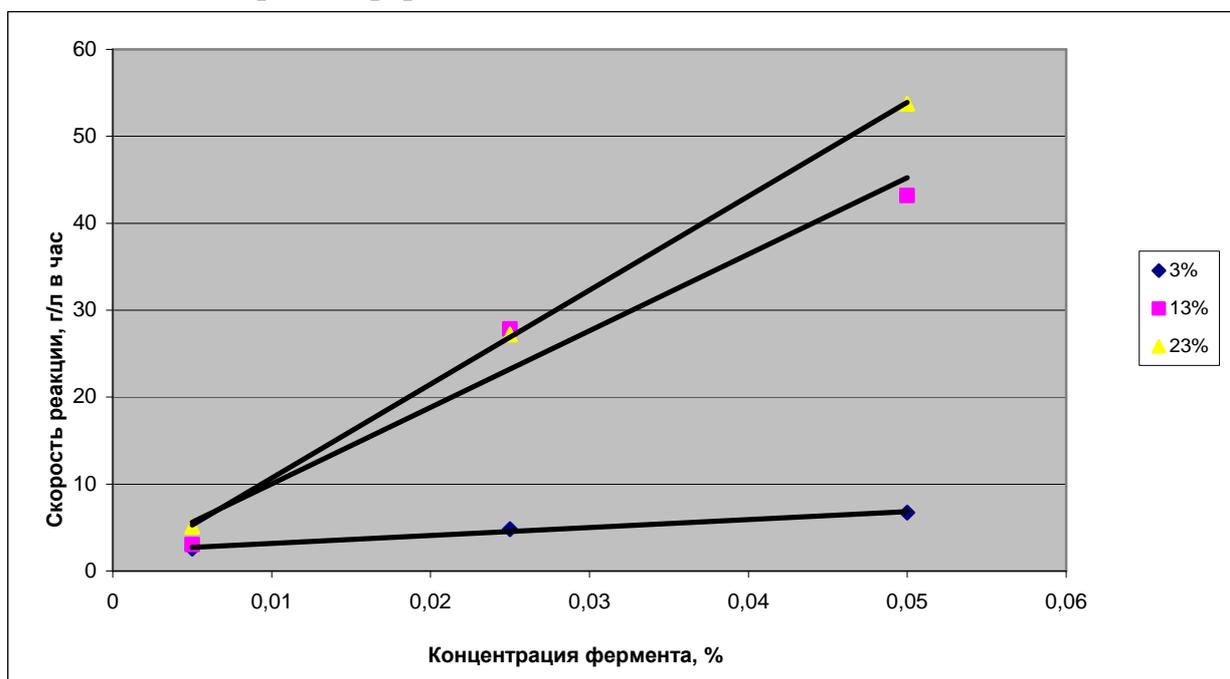


Рисунок 4 – Зависимость скорость гидролиза олигофруктозидов от концентрации фермента при различных концентрациях субстрата (3; 13 и 23%)

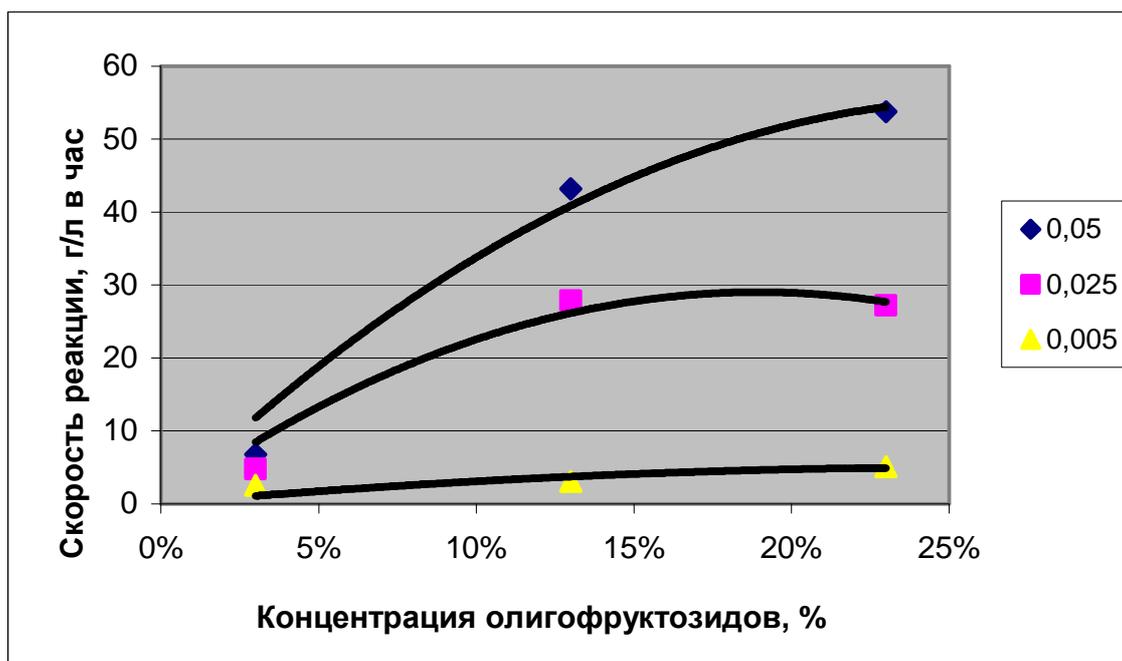


Рисунок 5 – Зависимость скорости гидролиза олигофруктозидов от концентрации субстрата при различных концентрациях фермента (0,05; 0,025 и 0,005 %)

Анализ полученных экспериментальных данных показал, что наибольшую скорость гидролиза обеспечивает концентрация субстрата 23 %, фермента – 0,025 %, однако, наиболее рациональной следует считать концентрацию субстрата 13-15 %, фермента – 0,025-0,03 %, т.к. дальнейшее увеличение этих показателей дает незначительный прирост скорости процесса.

С учетом полученных предварительных результатов спланирован и проведен эксперимент по оптимизации параметров гидролиза олигофруктозидов препаратом «Биобар К-1». Оптимизацию проводили с использованием центрального композиционного плана, обработку экспериментальных данных и построение пространственных графических зависимостей осуществляли в программе Statistica 10.0 (рисунки 6-8).

$$y = -7,893 + 0,3298 * x + 3,907 * y - 0,0022 * x * x - 0,0226 * x * y - 0,3683 * y * y$$

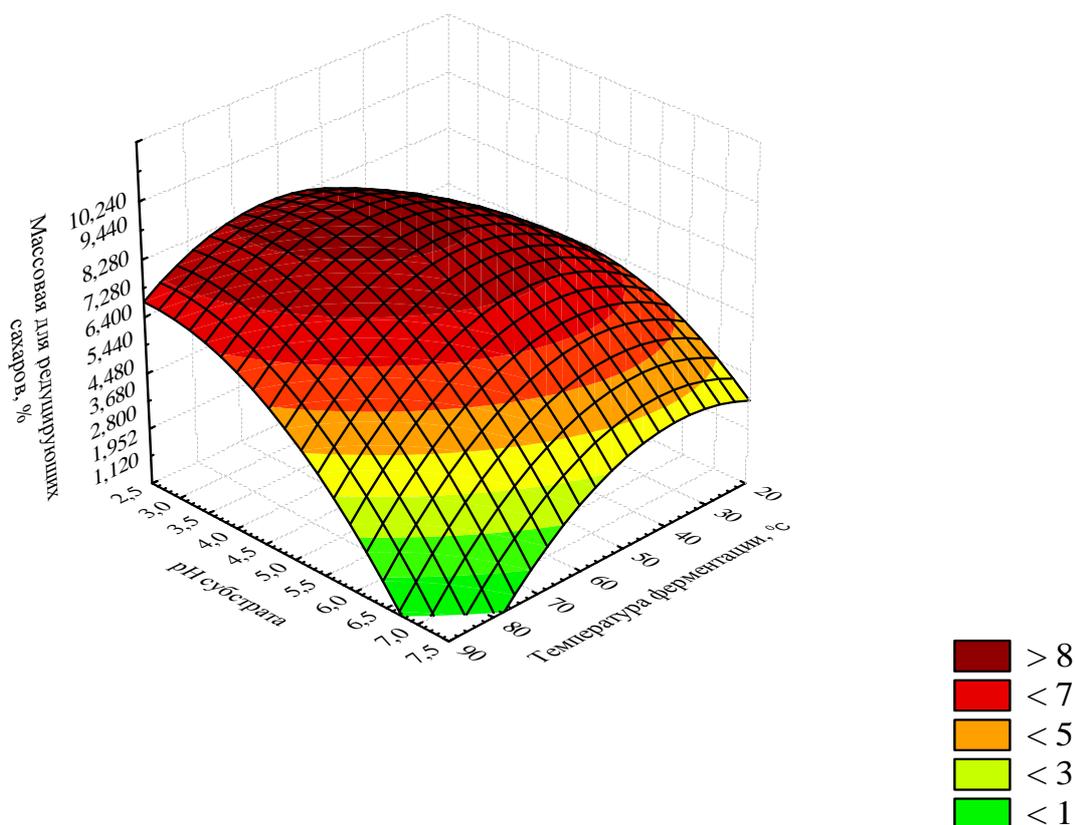


Рисунок 6 – Зависимость массовой доли редуцирующих от температуры и pH среды

$$y = -1,6313 + 0,2038 * x + 1,1129 * y - 0,0022 * x * x + 0,0032 * x * y - 0,0733 * y * y$$

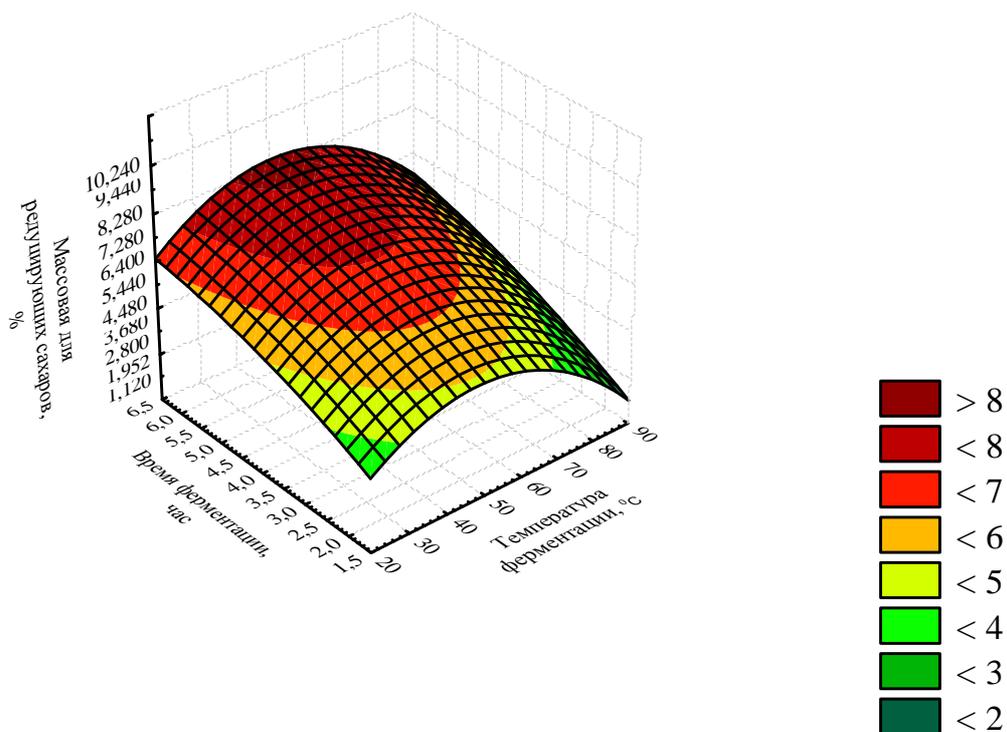


Рисунок 7 – Зависимость массовой доли редуцирующих от температуры и времени ферментации

$$y = 0,1939 + 2,4171 * x + 0,9831 * y - 0,3683 * x * x + 0,0612 * x * y - 0,0733 * y * y$$

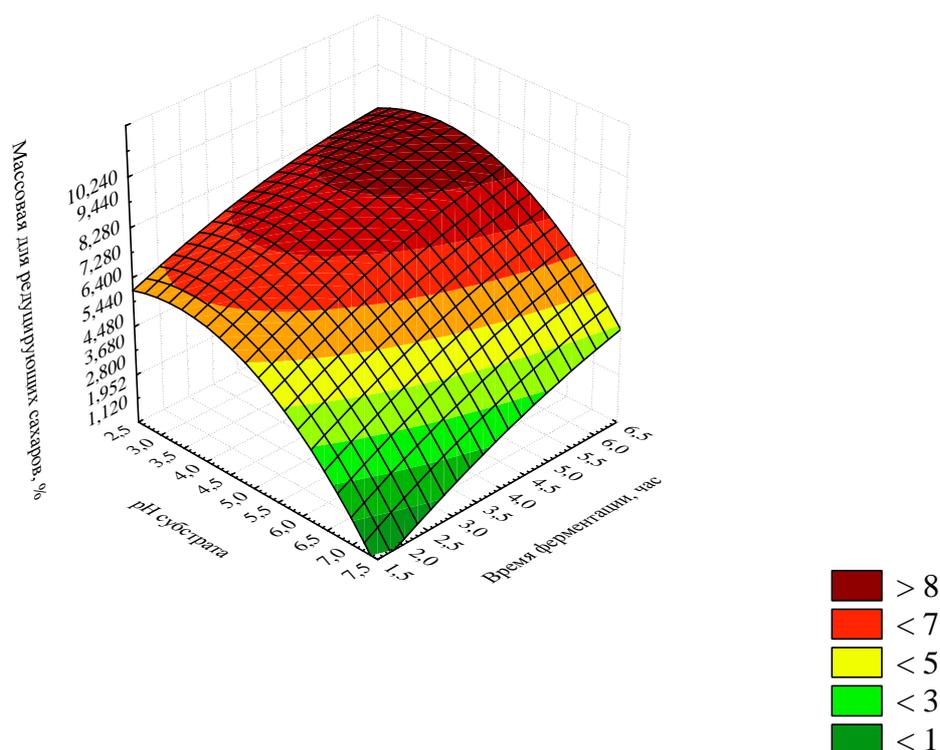


Рисунок 8 – Зависимость массовой доли редуцирующих сахаров от рН и времени ферментации

В результате обработки экспериментальных данных определены оптимальные значения технологических параметров гидролиза олигофруктозидов инвертазой: температура – 52,5 °С; рН среды – 4 - 4,5; продолжительность ферментации – 4,5 часов.

Изучению оптимальных условий действия инвертазы посвящены многочисленные исследования, которые проводятся в связи с выбором способов иммобилизации фермента и его использованием для получения инвертного сиропа и ФГС [7-9].

Показано, что наибольшую активность инвертаза проявляет при рН среды 4,5 – 5,5, температурный оптимум находится в интервале 50 - 65 °С. Автор работы [5] отмечает, что использование инвертазы для гидролиза инулина является менее затратным способом производства ФГС по сравнению с применением очищенных препаратов инулиназ.

Таким образом, полученные нами результаты исследований согласуются с литературными данными и служат основанием для разработки комплексной технологии переработки топинамбура с получением высокомолекулярного инулина и ФГС.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России, проект 4.1897.2011.

### Литература

1 Подпоронова Г.К. Подсластители и сахарозаменители: технология получения стевиол гликозидов /Г. К. Подпоронова, Н.Д. Верзилина, К.К. Полянский.- Воронеж: ФГОУ ВПО ВГАУ, 2006. - 155 с.;

2 Жеребцов Н.А. Биохимия / Н.А. Жеребцов, Т.Н. Попова, В.Г. Артюхов. - Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та, 2002. - 696 с.;

3 Zittan L. Enzymatic hydrolysis of inulin - an alternative way to fructose production / L. Zittan // Die Starche. - 1981. - Vol. 33, № 11. – P. 373-377;

4 Абемян В.А. Иммуобилизация микробной инулиназы на различных носителях / В.А. Абемян, Л.С. Манукян // Прикладная биохимия и микробиология. - 1992. - Т. 28, № 3. - С. 356-361.;

5 Thai Ha D. Characterization of inulin hydrolyzing enzyme(s) in commercial glucoamylases and application in acid production from Jerusalem artichoke tubers (Jat) / Thai Ha Dao, Jian Zhang, Jie Bao // Bioresource technology. – 2013. – Vol.148. – P. 157-162;

6 Назаренко М.Н. Интенсификация экстрагирования инулина из клубней топинамбура с применением вибрационного воздействия / М.Н. Назаренко, Т.В. Бархатова, М.А. Кожухова, И.А. Хрипко, Е.В. Бурлакова // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2013. – №10(094). – IDA [article ID]: 0941310018. – Режим доступа:<http://ej.kubagro.ru/2013/10/pdf/18.pdf>, 0,625 у.п.л.;

7 Aydar, S., Elif Böyükbayram, A., Şendur, M., & Toppare, L. / Immobilization of invertase in DAD type polymers: Combination of benzothiadiazole acceptor unit and 3,4-ethylenedioxythiophene and thiophene donor units // Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry, . 2011. – Vol. 48 № 11, P. 855-861;

8 Dizge, N., Gunaydin, O., Yilmaz, F., & Tanriseven, A. / Immobilization of invertase onto poly(3-methylthienyl methacrylate)/poly(3-thiopheneacetic acid) matrix // Biochemical Engineering Journal, 2008. - Vol. 40 № 1, P. 64-71;

9 Karkaş, T., & Önal, S. / Characteristics of invertase partitioned in poly(ethylene glycol)/magnesium sulfate aqueous two-phase system // Biochemical Engineering Journal, 2012. - Vol. 60, P. 142-150.

### References

1 Podporinova G.K. Podslastiteli i saharozameniteli: tehnologija poluchenija steviol glikozidov /G. K. Podporinova, N.D. Verzilina, K.K. Poljanskij.- Voronezh: FGOU VPO VGAU, 2006. - 155 s.;

2 Zherebcov N.A. Biohimija / N.A. Zherebcov, T.N. Popova, V.G. Artjuhov. - Voronezh: Izd-vo Voronezh. un-ta, 2002. - 696 s.;

3 Zittan L. Enzymatic hydrolysis of inulin - an alternative way to fructose production / L. Zittan // Die Starche. - 1981. - Vol. 33, № 11. – P. 373-377;

4 Abeljan V.A. Immobilizacija mikrobnj inulinazy na razlichnyh nositeljah / V.A. Abeljan, L.S. Manukjan // Prikladnaja biohimija i mikrobiologija. - 1992. - T. 28, № 3. - S. 356-361.;

5 Thai Ha D. Characterization of inulin hydrolyzing enzyme(s) in commercial glucoamylases and application in acid production from Jerusalem artichoke tubers (Jat) / Thai Ha Dao, Jian Zhang, Jie Bao // Bioresource technology. – 2013. – Vol.148. – P. 157-162;

6 Nazarenko M.N. Intensifikacija jekstragirovanija inulina iz klubnej topinambura s primeneniem vibracionnogo vozdeystvija / M.N. Nazarenko, T.V. Barhatova, M.A. Kozhuhova, I.A. Hripko, E.V. Burlakova // Politematicheskij setevoj jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Nauchnyj zhurnal KubGAU) [Jelektronnyj resurs]. – Krasnodar: KubGAU, 2013. – №10(094). – IDA [article ID]: 0941310018. – Rezhim dostupa:<http://ej.kubagro.ru/2013/10/pdf/18.pdf>, 0,625 u.p.l.

7 Aydar, S., Elif Böyükbayram, A., Şendur, M., & Toppare, L. / Immobilization of invertase in DAD type polymers: Combination of benzothiadiazole acceptor unit and 3,4-ethylenedioxythiophene and thiophene donor units // Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry, . 2011. – Vol. 48 № 11, P. 855-861;

8 Dizge, N., Gunaydin, O., Yilmaz, F., & Tanriseven, A. / Immobilization of invertase onto poly(3-methylthienyl methacrylate)/poly(3-thiopheneacetic acid) matrix // Biochemical Engineering Journal, 2008. - Vol. 40 № 1, P. 64-71;

9 Karkaş, T., & Önal, S. / Characteristics of invertase partitioned in poly(ethylene glycol)/magnesium sulfate aqueous two-phase system // Biochemical Engineering Journal, 2012. - Vol. 60, P. 142-150.