

Исследование продуктов комплексной переработки топинамбура методом гельпроникающей и тонкослойной хроматографии

Рудаков О.Б.

Воронежский государственный архитектурно-строительный университет, Воронеж

Яровой С.А., Соколенко Г.Г., Полянский К.К.

Воронежский государственный аграрный университет им. К.Д. Глинки, Воронеж

Поступила в редакцию 21.09.2010 г.

Аннотация

С помощью гельпроникающей и тонкослойной хроматографии проведено определение состава и степени полимеризации продуктов комплексной переработки топинамбура. Рассмотрены подходы по совершенствованию методов контроля качества и состава сырья, а так же готовой продукции при производстве продуктов функционального питания.

Ключевые слова: гельпроникающая хроматография, тонкослойная хроматография, резорциновый метод, топинамбур, инулин, фруктозо-глюкозный сироп, пищевые продукты функционального питания

By methods gel-permeation and thin-layer chromatography definition of structure and a degree of polymerization of products of complex processing of jerusalem artichoke is carried out. Approaches on perfection of a monitoring of quality and structure of raw material, and as finished goods are considered by manufacture of products of a functional feed.

Key words: gel-permeation chromatography, thin-layer chromatography, definition method on resorcinum, jerusalem artichoke, inulin, fructozo-glucosic syrup, foodstuff of functional feed

Введение

В последнее время наряду с увеличившимся темпом жизни и все более ухудшающейся экологической обстановкой, возросла потребность в продуктах функционального питания. Перспективным при создании таких продуктов является использование топинамбура. В настоящее время топинамбур и продукты его переработки активно используются в пищевой промышленности для корректировки пищевой ценности продуктов питания. Наибольший интерес представляют продукты переработки топинамбура – инулин и фруктозо-глюкозный сироп (ФГС) [1,2].

Инулин, как известно, полисахарид, состоящий из 30-36 остатков D-фруктозы и одного остатка глюкозы, соединенных β -(2,1)-гликозидными связями [3]. Благодаря своим свойствам, инулин и порошки с высоким его содержанием используют как пищевую добавку при производстве продуктов на молочной и кисломолочной основе, хлебобулочных и кондитерских изделий, напитков, соков и т.д. Инулин и инулиносодержащее сырье применяют для производства ФГС, которые за счет высокого содержания фруктозы используют в функциональных продуктах, при производстве пива и т.п. [1-7]. В зависимости от длины цепочки (молекулярной массы) инулин в организме человека оказывает стимулирующее

действие на микроорганизмы различных отделов толстого кишечника [5]. Поэтому одной из актуальных проблем является определение молекулярной массы инулина, входящего в состав инулиносодержащего концентрата из топинамбура.

Несмотря на активное внедрение продуктов с инулином и ФГС в питание, экономичных аттестованных рутинных методик, позволяющих установить их наличие в продукте, состав и степень полимеризации до сих пор нет. Поэтому вызывает интерес совершенствование существующих и развитие новых методик контроля. Хроматография сегодня – наиболее универсальный метод анализа пищевых продуктов и напитков. Хроматографические методы позволяют определять летучие и нелетучие компоненты пищи, основные ингредиенты и примеси. Благодаря универсальности, чувствительности, экспрессности, доступности аппаратуры хроматографические методы применяют для анализа исходного пищевого сырья, полупродуктов на всех стадиях технологического процесса и для контроля качества на выходе продукции.

В этой связи перспективными и легкодоступными методами определения олигомеров инулина в присутствии ди- и моносахаридов являются хроматографические методы, в первую очередь гелепроникающая колоночная хроматография (ГПХ) и ТСХ [8-18].

Целью данной работы явилось совершенствование методик колоночной ГПХ и ТСХ и их адаптация к контролю качества инулина, ФГС и продуктов с их содержанием.

Метод разделения с помощью колоночной ГПХ достаточно прост аппаратно, экономичен и, что самое главное, он позволяет разделять смеси веществ, различающихся по молекулярной массе, как поли-, так и олиго- и мономеров, причем в более мягких условиях, чем другие хроматографические методы. Метод ТСХ также отличается низкой стоимостью единичного анализа и не требует сложного оборудования и высокой квалификации оператора.

Эксперимент

В проведенном исследовании в качестве объектов использовали продукты из топинамбура: инулин, ФГС, фруктозу и глюкозу. Выделенный по методике, описанной в патенте РФ № 2148588, инулин представлял собой мелкодисперсный гигроскопичный порошок светло-кремового цвета влажностью 7,3%, плохо растворимый в воде и нерастворимый в спирте. ФГС получен по методике, описанной в патенте РФ № 2209835, он представлял собой вязкую непрозрачную жидкость темно-коричневого цвета, содержание сухих веществ в которой составляло не менее 71%. В качестве реперных веществ применяли высокоочищенный инулин фирм Orafti и Sigma, а также раствор дополнительно очищенного спиртом и перекристаллизованного инулина из топинамбура.

Для создания пребиотических продуктов необходимо определять степень полимеризации инулина, для этого использовали метод колоночной ГПХ на геле «сефадекс G-50», длина стеклянной колонки (слой геля) 350 мм, внутренний диаметр 10 мм, элюент – дистиллированная вода. В качестве детектора использовали рефрактометр ИРФ – 454Б2М. Для калибровки колонки применяли растворы следующих веществ: полиэтиленгликоль (ПЭГ) с молекулярными массами 6000, 3000, 2000, и 100, сахароза, глюкоза и фруктоза марки ч.д.а. Методом ГПХ определяли объем удерживания (V_R), равный объему растворителя, прошедшего через весь слой геля от момента внесения анализируемого вещества в колонку до

появления максимума концентрации этого вещества на выходе (табл.1). На рис. 1 представлена градуировочная зависимость $\log M = a + bV_R$, где a и b – эмпирические коэффициенты.

Таблица 1. Параметры калибровки и объемы выхода веществ

Стандарт	Молекулярная масса, у.а.е.	Логарифм молекулярной массы	Объем выхода (V_R), мл
ПЭГ-6000	6000	3.78	27.5
ПЭГ-3000	3000	3.48	34.2
ПЭГ-2000	2000	3.30	36.2
ПЭГ-100	100	2.00	56.2
Сахароза	342	2.53	45.5
Глюкоза	180	2.25	51.0
Фруктоза	180	2.25	52.3
Инулин из топинамбура	X	$\log X$	30.0

Подготовку водных вытяжек из хлебобулочных изделий производили по ГОСТ 5672-68. Растворы инулина, ФГС и водных вытяжек хлебобулочных изделий готовили с учетом 1%-ой концентрации углеводов.

Для ТСХ использовали пластинки Silufol и широкопористый силикагель Silpearl в качестве сорбента. Хроматографирование проводили восходящим способом трехкратной промывкой пластин раствором *n*-бутанола, уксусной кислоты и дистиллированной воды. В качестве контроля использовали 1%-е растворы кристаллической глюкозы, фруктозы, сахарозы. На рис. 2 и 3 представлены примеры полученных хроматограмм.

Результаты и их обсуждение

По результатам определения V_R инулина из топинамбура, установили его молекулярную массу. Она оказалась равной ~ 5200 , что соответствует степени полимеризации $n=32$ гексозных остатка.

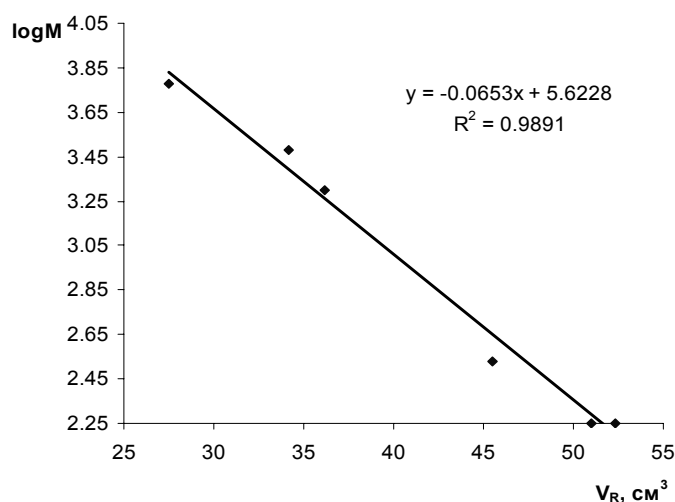


Рис. 1. Калибровка $\log M = a + bV_R$

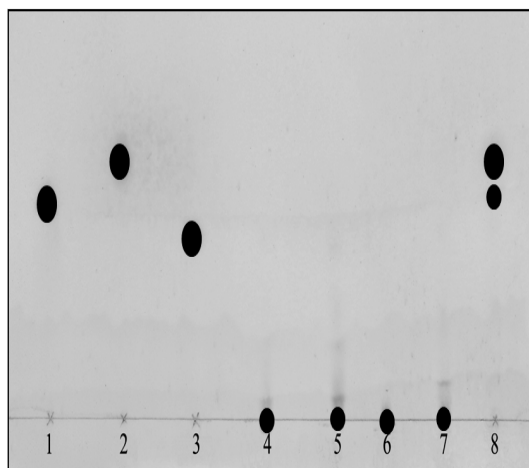


Рис. 2. Хроматограмма углеводов:
1 - глюкоза, 2 - фруктоза, 3 - сахароза,
4 -инулин (Orafti),
5 - инулиносодержащий концентрат из
топинамбура, 6 -инулин (Sigma),
7 - инулин очищенный из топинамбура,
8 - ФГС из топинамбура

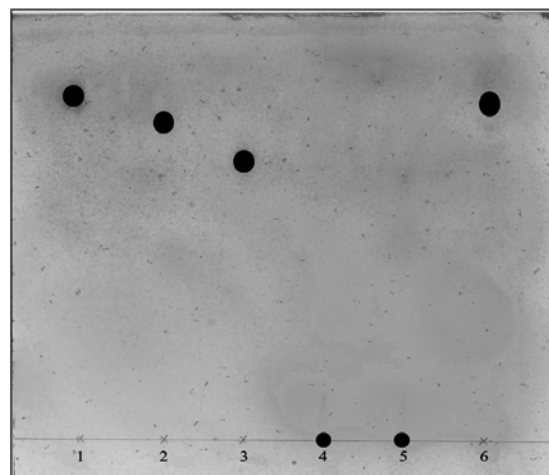


Рис. 3. Хроматограмма
функциональных продуктов:
1 - фруктоза, 2 - глюкоза, 3 - сахароза,
4 - инулин из топинамбура, 5 - вытяжка
из хлебобулочных изделий с инулином,
6 - вытяжка из хлебобулочных изделий с
ФГС

В результате компьютерной обработки хроматограмм с использованием видеоденситометра Sorbfil, установили показатели R_f исследуемых веществ (табл. 2).

Таблица 2. Параметр R_f для исследуемых аналитов

Аналиты	R_f
Глюкоза	0.30
Фруктоза	0.35
Сахароза	0.25
Инулин (Orafti)	0.01
Инулин из топинамбура	0.03
Инулин (Sigma)	0.01
Инулин очищенный из топинамбура	0.01
ФГС из топинамбура	0.30 и 0.35
Функциональный продукт с инулином	0.03
Функциональный продукт с ФГС	0.33

Сравнение величин R_f реперных веществ используемых для градуировки с R_f аналитов в пробах исследуемых хлебобулочных изделий и продуктах комплексной переработки топинамбура позволило качественно подтвердить наличие инулина в готовых продуктах и инулиносодержащем сырье, фруктозы и незначительного количества глюкозы в готовом продукте и ФГС.

Анализ готовых продуктов и сырья методом ТСХ позволяет качественно установить наличие инулина, фруктозы и глюкозы в сырье и готовом продукте, однако этот метод в заданных условиях эксперимента не позволяет точно определить концентрации добавок, поэтому для количественного анализа в исследовании использовались химические методики определения, в частности

резорциновый метод. Сущность метода заключается в способности кетоз давать окраску с резорцином в кислой среде [3]. Интенсивность окраски измеряли на фотоэлектроколориметре КФК 3-01 при длине волны 490 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. Так как инулин растворим в воде, но нерастворим в спирте, его содержание в готовых изделиях определяли по разности показателей прибора для водных и спиртовых вытяжек.

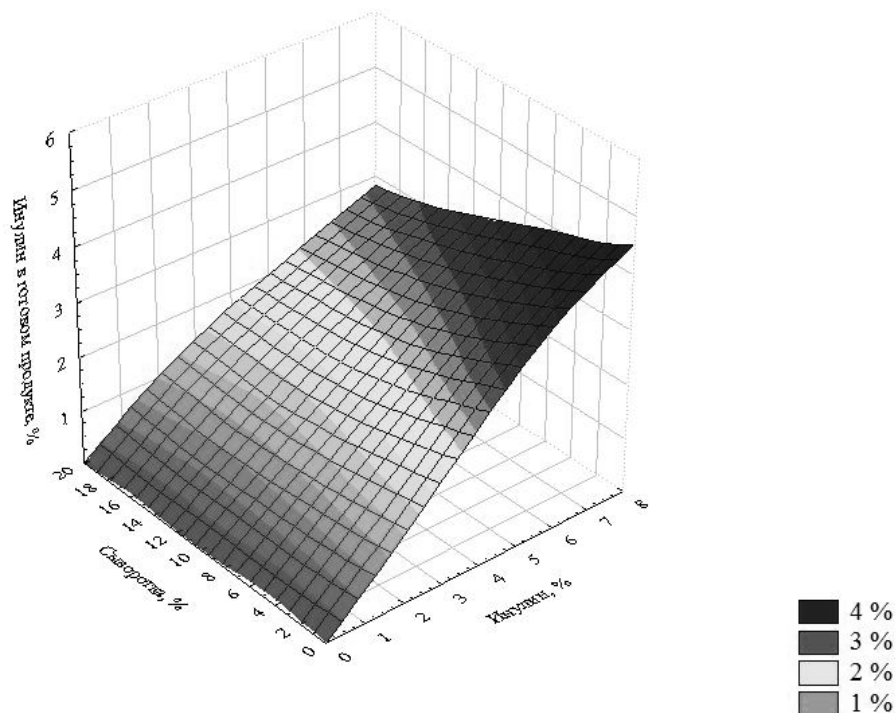


Рис. 4. Содержание инулина в готовом функциональном продукте в зависимости от дозировки инулина и сыворотки

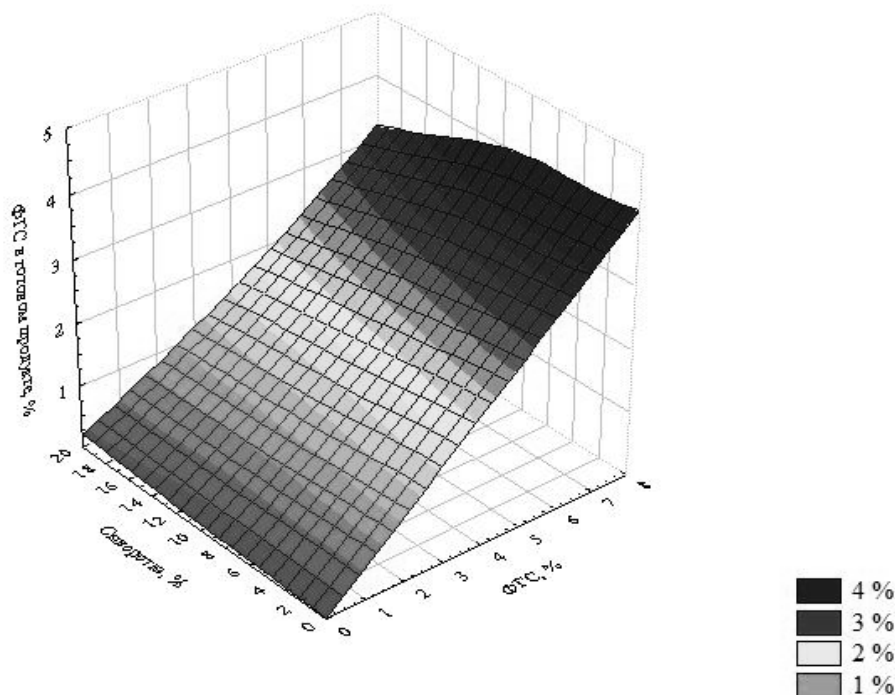


Рис.5. Содержание фруктозы в готовом функциональном продукте в зависимости от дозировки ФГС и сыворотки

Содержание суммы инулина и фруктозы в пересчете на инулин и абсолютно сухое сырье в процентах (X_1) для водной вытяжки вычисляли по формуле[2]:

$$X_1 = \frac{D \cdot 2500000}{498 \cdot m \cdot (100 - W)}$$

где D – оптическая плотность анализируемого образца; 498 – удельный показатель поглощения продуктов взаимодействия инулина с резорцином в кислой среде; m – масса сырья, г; W – влажность сырья.

Содержание суммы инулина и фруктозы в пересчете на инулин и абсолютно сухое сырье в процентах (X_2) для спиртовой вытяжки вычисляли по формуле:

$$X_2 = \frac{D \cdot 1000000}{498 \cdot m \cdot (100 - W)}$$

Содержание инулина в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (X_3) вычисляют по формуле $X_3 = X_1 - X_2$.

Результаты измерений представлены на рис. 4 и 5, из которых видно, что при внесении добавок часть их расходуется в процессе приготовления продукта, а часть переходит в готовый продукт, придавая ему функциональные свойства.

Заключение

Применение аппаратурно простых хроматографических методов – гельпроникающей и тонкослойной хроматографии в совокупности со стандартными химическими методами позволяет эффективно контролировать качество сырья и готовой продукции с использованием топинамбура и фруктозно-глюкозных сиропов в виде добавок в функциональные продукты питания с заданными пребиотическими свойствами.

Список литературы

1. Полянский К.К., Родионова Н.С., Глаголева Л.Э. Топинамбур: перспективы использования в молочной промышленности. Воронеж: Изд-во ВГУ, 1999. – 104 с.
2. Шматков Д.А., Беляков К.В., Попов Д.М. Определение инулина в корнях лопуха большого // Фармация. 1998. Вып.6. С.17-20.
3. Дудкин М.С., Щелкунов Л.Ф. Новые продукты питания / М.: Наука, 1998. – 304 с.
4. Корнеева О. С. Карбогидразы: препаративное получение, структура и механизм действия на олого- и полисахариды. Воронеж: ВГУ, 2001. 184 с.
5. Рудаков О.Б., Рудакова Л.В. Фруктоза как эффективный подсластитель // Кондитерское и хлебопекарное производство, №8, 2008 с.26-28
6. Рудаков О.Б., Родионова Н.С., Соколов М.И., Глаголева Л.Э., Полянский К.К. Углеводная фракция продуктов на основе топинамбура Молочная промышленность, 1999, 10, с. 29-30
7. Шереметова С.Г., Полянский К.К., Верзилина Н.Д., Гасанова Е.С., Манешин В.В. Технологические основы получения глюкозо-фруктозного сиропа из топинамбура // Пиво и напитки. 2008. № 5. С. 48.
8. Рудаков О.Б., Родионова Н.С., Бочарова О.Н. Современное состояние количественного контроля углеводов в пищевых продуктах методами

высокоэффективной жидкостной хроматографии (обзор)//Хранение и переработка сельхозсырья, 1999 № 2. с.52-56

9.Соколов М.И., Болдырев С.Ю., Шестаков А.С. Рудаков О.Б. Гель-проникающая хроматография смесей олиго-, ди- и моносахаридов //Известия вузов. Пищевая технология, 1999, вып. 5-6. С. 92-94

10.Соколов М.И., Рудаков О.Б. Жидкостный хроматограф с пламенно-ионизационным детектором для эксклюзионной хроматографии //Сорбционные и хроматографические процессы, 2004, Т.4, №3, с. 348-352

11. Остриков А.Н., Калашников Г.В., Рудаков О.Б., Калабухов Г.М., Данковцев А.В. Определение методом тонкослойной хроматографии содержания углеводов в картофеле и овощах при влаготепловой обработке Известия вузов. Пищевая технология. №5-6, 2003. с.106-108

12. Рудаков О.Б., Полянский К.К. Хроматография и хроматографические приборы сегодня //Молочная промышленность, 2004, №4, с.38

13. Рудаков О.Б., Полянский К.К., Селеменев В.Ф. Современная жидкостная хроматография углеводов //Масла и жиры, №12, 2005, с. 13-14

14. Рудаков О.Б., Рудакова Л.В. Полянский К.К. Современные методы контроля качества молочной продукции //Переработка молока, №9, 2009, с. 56-57

15. Детерман Г. Гельхроматография. М.: Мир, 1970. 250 с.

16. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Смирнова-Иконникова М.И., Ярош Н.П., Луковникова Г.А. Методы биохимического исследования растений / Л.: Колос, 1972. 456 с.

17. Перковец М.В. Инулин и олигофруктоза – натуральные пребиотики в питании детей раннего возраста // Пищевые ингредиенты, сырье и добавки. 2009. Вып.1. С. 40-41

18. Полянский К.К., Котов В.В., Гасанова Е.С., Шереметова С.Г. Подсластители из растительного сырья при производстве молочных напитков. Воронеж: Истоки, 2010. 100 с.

Статья посвящается светлой памяти известного ученого в области переработки топинамбура Манешина Вячеслава Васильевича, которому авторы благодарны за ценные советы и помощь при выполнении совместных исследований

Рудаков Олег Борисович - д.х.н., профессор, декан факультета заочного обучения, зав. кафедрой физики и химии, Воронежский государственный архитектурно-строительный университет, Воронеж, тел. (4732)-717617

Яровой Сергей Анатольевич - аспирант кафедры процессов и аппаратов пищевых производств, Воронежский государственный аграрный университет, Воронеж

Соколенко Галина Григорьевна - к.б.н., доцент кафедры биохимии и микробиологии, Воронежский государственный аграрный университет, Воронеж

Полянский Константин Константинович - д.т.н., проф. кафедры технологии производства и переработки животноводческой продукции, Воронежский государственный аграрный университет, Воронеж

Rudakov Oleg B. - Doctor of Chemistry, professor, decane of faculty of correspondence course, manager of Chair of physic and chemistry, Voronezh State University of Architecture and Civil Engineering, Voronezh, e-mail: rudakov@vgasu.vrn.ru

Yarovoy Sergey A. - the post-graduate student of chair «Processes and devices of edible productions», Voronezh state agrarian university, Voronezh, e-mail: serg.yarovoy@mail.ru

Sokolenko Galina G. - Cand. Biol. Sci., senior lecturer of chair «Biochemistry and microbiology», Voronezh state agrarian university, Voronezh

Polansky Konstantin K. - Dr.Sci.Tech., the professor of chair «the Production technology and processings of cattle-breeding production» Voronezh state agrarian university, Voronezh