

KATARZYNA SZAMBELAN

## WYKORZYSTANIE BULW TOPINAMBURU (*HELIANTHUS TUBEROSUS* L.) DO PRODUKCJI ETANOLU Z UŻYCIEM DROŹDŹY *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

### Streszczenie

Przedmiotem pracy było określenie wydajności produkcji alkoholu etylowego z bulw topinamburu (*Helianthus tuberosus* L.) przy użyciu drożdży gorzelnicznych *Saccharomyces cerevisiae*: Bc16a i D2. Badania prowadzono na rozdrobnionych bulwach i na soku z bulw topinamburu dwóch genotypów: Albik i Rubik. Przed procesem fermentacji zastosowano hydrolizę kwasową i enzymatyczną inuliny i inulidów, zarówno w bulwach, jak i w soku z bulw, obu genotypów topinamburu, do cukrów prostych. Maksymalne ilości alkoholu etylowego, uzyskiwanego przy użyciu drożdży Bc16a, wynosiły:

- 1) dla rozdrobnionych bulw:
  - genotyp Albik 10,8% obj.,
  - genotyp Rubik 9,3% obj.,
- 2) dla soku z bulw:
  - genotyp: Albik 8,9% obj.,
  - genotyp Rubik 8,2% obj.

### Wstęp

Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) jest rośliną spokrewnioną ze słonecznikiem. Roślina ta posiada szeroko rozwinięty system korzeniowy wytwarzający bulwy [7, 8, 20]. Charakteryzuje się wysoką wydajnością bulw z hektara (do 34,2 t) [2, 6, 8, 13], dobrym wzrostem na ubogich i wyjałowionych glebach, odpornością na mróz i choroby oraz wysoką wydajnością węglowodanów z hektara (5-14 t) [6, 7, 8], co powoduje atrakcyjność tej rośliny i coraz większe zainteresowanie. Bulwy topinamburu mogą być wykorzystywane m.in. do produkcji fruktozy, inuliny i etanolu [1, 2, 5, 6, 9, 11, 13, 16, 17, 18, 19, 21].

Zainteresowanie bulwami topinamburu, jako surowcem do produkcji etanolu, wynika przede wszystkim ze stosunkowo wysokiej zawartości węglowodanów (11–20%), w tym inulina i inulidy stanowią 70–90% tych związków. Inulina zbudowana jest z 30 i więcej cząsteczek fruktozy (inulidy zbudowane są z mniej niż 30 cząsteczek) połączonych wiązaniami  $\beta$ -1,2, tworzących łańcuchy zakończone cząsteczkami glukozy [19, 21]. Konwencjonalne drożdże gorzelnicze z rodzaju *Saccharomyces cerevisiae* generalnie nie wykazują zdolności bezpośredniej fermentacji inuliny i inulidów [9]. Konieczne jest zatem odpowiednie przygotowanie podłoża, stosując procesy kwasowej lub enzymatycznej hydrolizy węglowodanów do cukrów prostych fermentujących (głównie fruktozy) [12, 15, 19, 21].

Celem pracy była ocena wydajności produkcji alkoholu etylowego z rozdrobnionych bulw i soku z bulw topinamburu (*H. tuberosus* L.) przy użyciu drożdży gorzelniczych *S. cerevisiae*: Bc16a i D2, po uprzedniej hydrolizie kwasowej i enzymatycznej węglowodanów do cukrów prostych.

## Material i metody badań

Surowcem do badań były bulwy topinamburu (*Helianthus tuberosus* L.) dwóch genotypów: Albik i Rubik, otrzymane z Centrum Zasobów Genowych Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie. Świeże bulwy rozdrabniano w młynku szarpakowym oraz pozyskiwano z nich sok w prasie hydraulicznej (urządzenia marki Bucher TPZ 7). Rozdrobnione bulwy i sok z bulw przechowywano do dalszych badań w stanie zamrożonym.

Materiałem stosowanym w badaniach do procesu fermentacji alkoholowej były drożdże gorzelnicze *Saccharomyces cerevisiae*: Bc16a i D2.

Procesy hydrolizy węglowodanów do cukrów prostych fermentujących prowadzono w warunkach:

- hydroliza kwasem siarkowym(VI) uzupełnianym w próbce do pH 2,0, temp. 100°C, czas 60 min,
- hydroliza enzymatyczna z użyciem preparatu enzymatycznego inwertazy „Gaminvert G”: pH 5,0, temp. 55°C, czas 60 min.

Po procesach hydrolizy pH korygowano do wartości 5,0–5,5 za pomocą 10% NaOH.

Próby w ilości 200 g miazgi lub 200 ml soku przed procesem fermentacji schładzano do temperatury nastawu (20–25°C) i zaszczepiano inokulum drożdżowym w ilości 10% (v/v). Fermentacje okresowe rozdrobnionych bulw i soku z bulw topinamburu prowadzono w temperaturze 30°C przez 72 godziny.

Zawartość cukrów redukujących (wyrażonych jako fruktoza) po wszystkich procesach obróbki, oznaczano metodą kolorymetryczną z kwasem 3,5-DNS [13].

Zawartość etanolu w płynach fermentacyjnych oznaczano po destylacji metodą areometryczną [10]. Wydajność etanolu wyrażano w procentach objętościowych.

## Wyniki i dyskusja

W celu określenia wydajności produkcji alkoholu etylowego z bulw topinamburu (*H. tuberosus* L.) przeprowadzono dwie fermentacje alkoholowe: jedną z rozdrobnionych bulw, a drugą z soku z bulw; obydwie w zależności od typu hydrolizy węglowodanów – kwasowej i enzymatycznej oraz zastosowanego szczepu drożdży – Bc16a i D2 (Rys. 1–4). Rozdrobnione bulwy charakteryzowały się zawartością suchej substancji, dla genotypu: Albik 29,69% i Rubik 26,56%. Zawartość suchej substancji w soku z bulw wynosiła, w przypadku genotypu: Albik 17,33% i Rubik 15,95%.

Tabela 1

Zawartość cukrów redukujących w rozdrobnionych bulwach topinamburu po procesach hydrolizy kwasowej i enzymatycznej.

Reducing sugars content in Jerusalem artichoke tubers after acid and enzymatic hydrolysis.

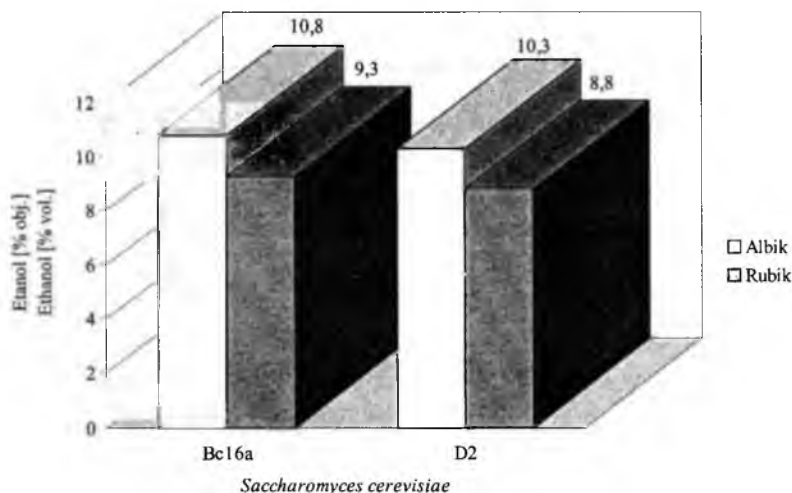
Genotyp Cultivar	Hydroliza kwasowa z użyciem H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 100°C, 60 minut Acid hydrolysis with H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 100°C, 60 minutes		Hydroliza enzymatyczna z użyciem inwertazy, 55°C, 60 minut Enzymatic hydrolysis with invertase, 55°C, 60 minutes	
	c [g/L]	c [% s.s.]	c [g/L]	c [% s.s.]
Albik	234,54	79,01	185,12	62,35
Rubik	196,93	74,15	165,11	62,16

Tabela 2

Zawartość cukrów redukujących w soku z bulw topinamburu po procesach hydrolizy kwasowej i enzymatycznej.

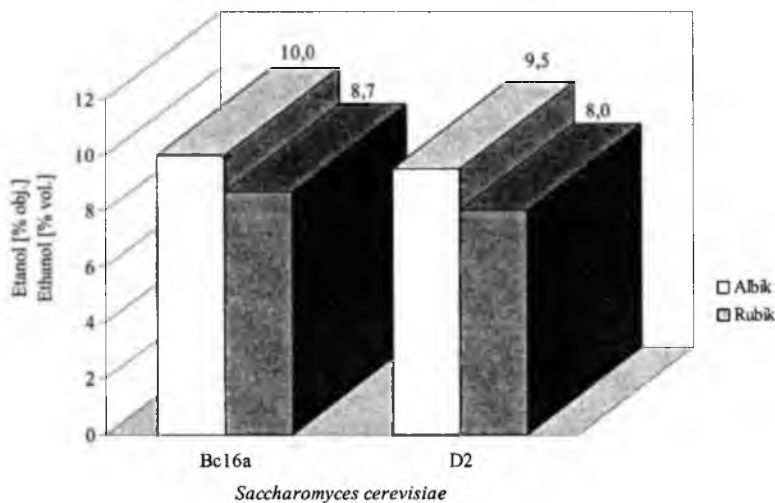
Reducing sugars content in Jerusalem artichoke juice after acid and enzymatic hydrolysis.

Genotyp Cultivar	Gęstość soku Density of the juice g/ml	Hydroliza kwasowa z użyciem H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 100°C, 60 minut Acid hydrolysis with H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 100°C, 60 minutes		Hydroliza enzymatyczna z użyciem inwertazy, 55°C, 60 minut Enzymatic hydrolysis with invertase, 55°C, 60 minutes	
		c [g/L]	c [% s.s.]	c [g/L]	c [% s.s.]
Albik	1,071	182,14	98,13	161,61	87,07
Rubik	1,067	162,41	95,43	146,26	85,94



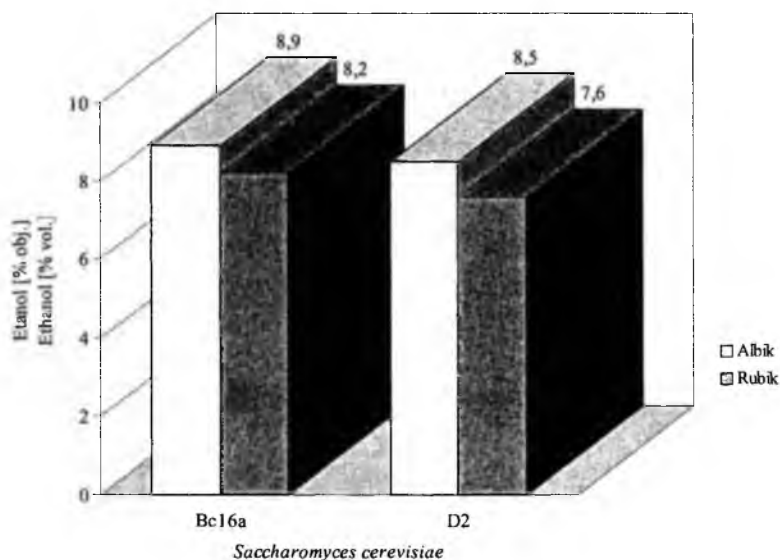
Rys. 1. Wydajność etanolu z rozdrobnionych bulw topinamburu przy użyciu drożdży *S. cerevisiae*, po hydrolizie kwasowej węglowodanów.

Fig. 1. Yield of ethanol from Jerusalem artichoke tubers using *S. cerevisiae*, after acid hydrolysis of carbohydrates.



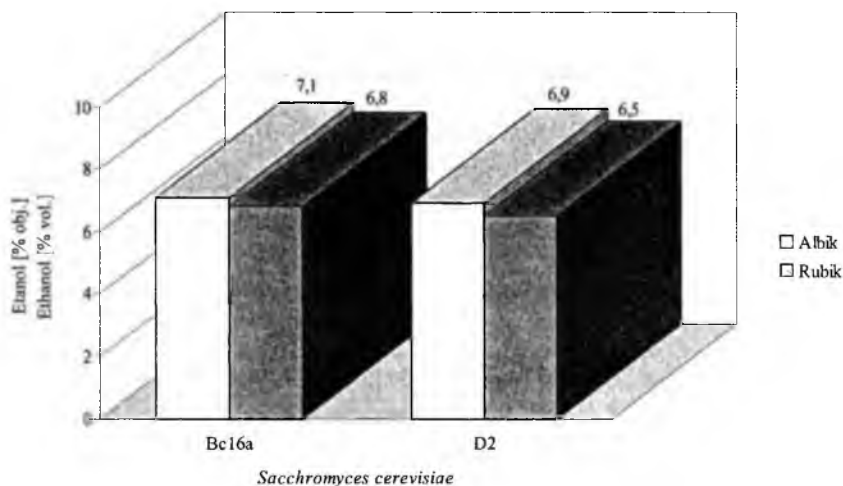
Rys. 2. Wydajność etanolu z rozdrobnionych bulw topinamburu przy użyciu drożdży *S. cerevisiae*, po hydrolizie enzymatycznej węglowodanów.

Fig. 2. Yield of ethanol from Jerusalem artichoke tubers using *S. cerevisiae*, after enzymatic hydrolysis of carbohydrates.



Rys. 3. Wydajność etanolu z soku z bulw topinamburu przy użyciu drożdży *S. cerevisiae*, po hydrolizie kwasowej węglowodanów.

Fig. 3. Yield of ethanol from Jerusalem artichoke juice using *S. cerevisiae*, after acid hydrolysis of carbohydrates.



Rys. 4. Wydajność etanolu z soku z bulw topinamburu przy użyciu drożdży *S. cerevisiae*, po hydrolizie enzymatycznej węglowodanów.

Fig. 4. Yield of ethanol from Jerusalem artichoke juice using *S. cerevisiae*, after enzymatic hydrolysis of carbohydrates.

Węglowodany zawarte w bulwach i w soku z bulw topinamburu przed procesem fermentacji poddawane były hydrolizie kwasowej i enzymatycznej w celu rozłożenia ich do cukrów prostych fermentujących (tab. 1, tab. 2). Parametry prowadzenia hydrolizy inuliny i inulidów podawane w literaturze różnią się w zależności od autorów [15, 18, 21, 22]. Najwyższe ilości cukrów fermentujących uzyskiwano w procesie hydrolizy kwasowej w rozdrobnionych bulwach topinamburu genotypu Albik: 234,54 g/L i Rubik 196,93 g/L (tab. 1). Natomiast stosując hydrolizę enzymatyczną w rozdrobnionych bulwach uzyskiwano mniejsze ilości cukrów prostych dla genotypu: Albik 185,12 g/L i Rubik 165,11 g/L (tab. 1). Tab. 2. przedstawia wpływ rodzaju hydrolizy węglowodanów na zawartość cukrów fermentujących w soku z bulw topinamburu. Hydroliza kwasowa węglowodanów w soku pozwoliła na uzyskiwanie wyższych ilości cukrów redukujących dla genotypu: Albik 182,14 g/L i Rubik 162,41 g/L, w porównaniu z hydrolizą enzymatyczną dla genotypu: Albik 161,61 g/L i Rubik 146,26 g/L (tab. 2). Zastosowanie hydrolizy kwasowej do rozkładu węglowodanów w rozdrobnionych bulwach dało lepsze efekty o około 22% w porównaniu z hydrolizą kwasową węglowodanów w soku z bulw. Natomiast hydroliza enzymatyczna węglowodanów w rozdrobnionych bulwach pozwoliła na uzyskiwanie ilości cukrów prostych wyższej o około 13% niż hydroliza enzymatyczna węglowodanów w soku z bulw topinamburu (tab. 1, tab. 2). Hydrolizę enzymatyczną prowadzono z użyciem enzymu Gaminvert G. Mimo, że enzym ten charakteryzował się głównie aktywnością inwertazy dał dobre rezultaty hydrolizy węglowodanów rozdrobnionych bulw i soku z bulw topinamburu porównywalne z danymi literaturowymi przy zastosowaniu inuliny [2]. Tak przygotowane rozdrobnione bulwy i sok z bulw topinamburu były podłożem do fermentacji alkoholowej.

Najwyższe ilości alkoholu etylowego uzyskiwano z rozdrobnionych bulw topinamburu genotypu Albik z użyciem drożdży Bc16a: 10,8% obj. etanolu, po hydrolizie kwasowej węglowodanów (rys. 1). Stosując hydrolizę enzymatyczną węglowodanów w rozdrobnionych bulwach przed procesem fermentacji uzyskiwano wydajności etanolu: dla genotypu Albik 10,0% obj. i Rubik 8,7% obj. (rys. 2).

W wyniku fermentacji alkoholowej soku z bulw topinamburu przy użyciu drożdży Bc16a, uzyskiwano następujące zawartości alkoholu etylowego: po hydrolizie kwasowej węglowodanów dla genotypu: Albik 8,9% obj. i Rubik 8,2% obj., a po hydrolizie enzymatycznej węglowodanów dla genotypu: Albik 7,1% obj. i Rubik 6,8% obj. etanolu (rys. 3, rys. 4).

Uzyskane w badaniach wydajności alkoholu etylowego z bulw topinamburu (*H. tuberosus* L.) przy użyciu drożdży *Saccharomyces cerevisiae* są zbliżone lub wyższe niż podaje literatura [3, 4, 7, 18]. Większość jednak tych prac dotyczy soku z bulw topinamburu, który jest łatwiejszy w obróbce.

Przeprowadzone badania (rys. 1–4) dowodzą, że zarówno rozdrobnione bulwy, jak i sok z bulw topinamburu są dobrym surowcem do otrzymywania z nich alkoholu etylowego z użyciem drożdży gorzelnicznych *Saccharomyces cerevisiae*. Różnica między końcową zawartością etanolu uzyskanego po fermentacji rozdrobnionych bulw i soku z bulw zależała od różnicy zawartości cukrów redukujących. Wyższe stężenie cukrów redukujących w rozdrobnionych bulwach topinamburu pozwoliło na otrzymanie wyższych ilości alkoholu etylowego w porównaniu z sokiem z bulw.

## Wnioski

1. Zastosowanie hydrolizy kwasem siarkowym do rozkładu inuliny i inulidów w bulwach topinamburu umożliwiło uzyskiwanie wyższych ilości cukrów prostych fermentujących w porównaniu z enzymatyczną hydrolizą za pomocą inwertazy.
2. Fermentacja rozdrobnionych bulw pozwoliła na pozyskiwanie większych ilości alkoholu etylowego niż fermentacja soku z bulw topinamburu (*H. tuberosus* L.).
3. Najlepsze efekty fermentacji obserwowano stosując genotyp Albik oraz drożdże Bc16a zarówno dla rozdrobnionych bulw, jak i dla soku z bulw topinamburu (*H. tuberosus* L.).

## LITERATURA

- [1] Andrzejewski M.: Zapomniana roślina uprawna – topinambur, *Poradnik Gospodarski*, **3**, 1997, 46.
- [2] Barta J.: Jerusalem artichoke as a multipurpose raw material for food products of high fructose or inulin content, Elsevier Science Publisher B.V., 1993.
- [3] Chabbert N., Braun Ph., Guiraud J.P., Arnoux M., Galzy P.: Productivity and fermentability of Jerusalem artichoke according to harvesting date, *Biomass*, **3**, 1983, 209.
- [4] Chabbert N., Guiraud J.P., Arnoux M., Galzy P.: The advantageous use of an early Jerusalem artichoke cultivar for the production of ethanol, *Biomass*, **8**, 1985, 233.
- [5] Chrapkowska K.J., Góral S., Piasecki M.: Otrzymywanie syropów fruktozowych z bulw *Helianthus tuberosus* L. (topinambur), XXIV Sesja Naukowa KTChZ PAN, Wrocław 1993, 161.
- [6] Duvnjak Z., Kosaric N., Hayes R.D.: Kinetics of ethanol production from Jerusalem artichoke juice with some *Kluyveromyces* species, *Biotechnol. Letters*, **3** (10), 1981, 589.
- [7] Duvnjak Z., Kosaric N., Kliza S.: Production of alcohol from Jerusalem artichoke by yeasts, *Biotechnology and Bioengineering*, **24**, 1982, 2297.
- [8] Góral S.: Słonecznik bulwiasty – Topinambur. Uprawa i użytkowanie, Radzików 1997.
- [9] Guiraud J.P., Cailland J.M., Galzy P.: Optimization of alcohol production from Jerusalem artichokes, *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **14**, 1982, 81.
- [10] Ładoński W., Gospodarek T.: Podstawowe metody analityczne produktów żywnościowych, PWN, Warszawa-Wrocław 1986.
- [11] Margaritis A., Bajpai P.: Ethanol production from Jerusalem artichoke tubers (*Helianthus tuberosus*) using *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces rosei*, *Biotechnol. and Bioengineering*, **24**, 1982, 941.

- [12] Margaritis A., Bajpai P., Cannell E.: Optimization studies for the bioconversion of Jerusalem artichoke tubers to ethanol and microbial biomass, *Biotechnol. Letters*, **3** (10), 1981, 595.
- [13] Mays D.A., Buchanan W., Bradford B.N., Giordano P.M.: Fuel production potential of several agricultural crops, *Advances in new crops*, 1990, 260.
- [14] Miller G.L.: Use of dinitrosalicylate reagent for determination of reducing sugar, *Anal. Chem.*, **31**, 1959, 426.
- [15] Pekić B., Slavica B., Lepojević Ž., Petrović S.M.: Effect of pH on the acid hydrolysis of Jerusalem artichoke inulin, *Food Chemistry*, **17**, 1985, 169.
- [16] Pikulik R.: Poznajmy topinambur, *Poradnik Gospodarski*, **2**, 1994, 20.
- [17] Rosa M.F., Vieira A.M., Bartolomen M.L.: Production of high concentration of ethanol from mash, juice and pulp of Jerusalem artichoke tubers by *Kluyveromyces fragilis*, *Enzyme Microb. Technol.*, **8**, 1986, 673.
- [18] Sachs R.M., Clifford B.L., Vasavada A., Sully M.J., Williams L.A., Ziobro G.C.: Fuel alcohol from Jerusalem artichoke, *California Agriculture*, **35(9-10)**, 1981, 4.
- [19] Schorr-Galindo S., Fontana A., Guiraud J.P.: Fructose syrups and ethanol production by selective fermentation of inulin, *Current Microbiology*, **30**, 1995, 325.
- [20] Swanton C.J., Cavers P.B., Clements D.R., Moore M.J.: The biology of canadian weeds.101. *Helianthus tuberosus L.*, *Can. J. Plant Sci.*, **72**, 1992, 1367.
- [21] Williams L.A., Ziobro G.: Processing and fermentation of Jerusalem artichoke for ethanol production, *Biotechnol. Letters*, 1982, 45.
- [22] Zittan L.: Enzymatic hydrolysis of inulin – an alternative way to fructose production, *Starch*, **11**, 1981, 373.

#### USING JERUSALEM ARTICHOKE (*HELIANTHUS TUBEROSUS L.*) TUBERS TO ETHANOL PRODUCTION BY *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

##### S u m m a r y

The object of the studies was to investigate the yield of ethanol production from Jerusalem artichoke tubers by *Saccharomyces cerevisiae*: Bc16a and D2. Pulp and juice of two cultivars of Jerusalem artichoke: Albik and Rubik were used in these researches. The material was used as the fermentation substrate with prior acid and enzymatic hydrolysis of the inulin and inulids in Jerusalem artichoke tubers and juice to fermentable carbohydrates. The maximum quantity of ethanol was obtained from pulp by yeast Bc16a of cultivar: Albik 10,8% vol. and Rubik 9,3% vol. and from juice of cultivar: Albik 8,9% vol. and Rubik 8,2% vol. ☒