

УДК 53.03.13.21: XX.01.77: 69.09.07.07

ОПТИМІЗАЦІЯ ЕКСТРАГУВАННЯ ФРУКТАНІВ ІЗ КУЛЬТИВОВАНИХ *in vitro* «БОРОДАТИХ» КОРЕНІВ ЦИКОРІЮ

К. С. Мазник
Н. А. Матвеева

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії
НАН України, Київ

E-mail: joyna56@gmail.com

Отримано 03.05.2012

Досліджували залежність ефективності екстрагування фруктанів від тривалості попереднього замочування, температури і тривалості високотемпературної екстракції. Для дослідження використовували висушені й подрібнені трансгенні корені цикорію *Cichorium intybus* L. сорту Пала росса, одержані шляхом трансформації з використанням *Agrobacterium rhizogenes* із вектором pSV161. Застосовували низько- та високотемпературне екстрагування: без нагрівання за +22 °С протягом 0,5; 1 і 24 год та з нагріванням при +70 °С; 80 °С і 90 °С упродовж 10; 20 і 30 хв. Фракціонування фруктанів здійснювали двома шляхами: розділенням фракцій кристалізацією — високомолекулярною за +4 °С та відділенням низькомолекулярною екстракцією 95%-м етанолом. Для визначення концентрації фруктанів у екстрактах послуговувалися методом Мак-Рері і Слаттері.

На підставі експериментальних даних було побудовано математичну модель процесу екстрагування фруктанів, перевірено її адекватність за допомогою критерію Фішера та коефіцієнта детермінації, встановлено оптимальні параметри екстракції з використанням методів лінійного програмування. Екстрагування протягом 30 хв при 90 °С без попереднього замочування визначено як найбільш технологічне, що дає змогу екстрагувати основну масу фруктанів із трансгенних коренів ($146 \pm 8,77$ мг/г сухої маси коренів).

Оптимальним режимом виділення фруктанів з культури «бородатих» коренів цикорію є екстрагування за температури +90 °С упродовж 30 хв; тривалість попереднього замочування не впливає на ефективність екстракції. Найбільш ефективним режимом отримання низько- та високомолекулярної фракцій фруктанів із трансгенних коренів цикорію є двоступінчасте екстрагування 95%-м етанолом за +80 °С та водою при +90 °С; тривалість кожного етапу становила 30 хв.

Ключові слова: фруктани, *Cichorium intybus* L., фракціонування, оптимізація екстрагування.

Генетична трансформація є стресовим чинником стосовно рослини і може спричинювати певні зміни біохімічних процесів. Однією з них є підвищення синтезу і накопичення запасних сполук, зокрема поліфруктанів [1]. Трансгенні корені можуть бути джерелом отримання поліфруктанів, у тому числі інуліну, оскільки використання біотехнологічних методів дає змогу підвищити синтез цих сполук. Фруктани — полісахариди, молекула яких побудована із залишків D-фруктози. Їх застосовують у харчовій промисловості та в медицині, однак зараз лише інулін виробляють у великих обсягах. Фруктани використовують як дієтичну добавку до раціону за порушень вуглеводного, ліпідного обміну та обміну кальцію [2–4], при дисбактеріозах [5–7], а також онкозахворюваннях [8, 9]. Інулін є повноцінним замінником глюкози, має гіпоглікемічні властивості, знижує вміст холестерину

та тригліцеридів у крові хворих на діабет [10]. Фруктани є так званими харчовими волокнами і мають якості речовини, що сприяє виведенню токсичних речовин зі шлунково-кишкового тракту [11].

Фруктани отримують зазвичай з природного рослинного матеріалу. Разом з тим вони також у значній кількості накопичуються в «бородатих» коренях [12, 13], які у разі розроблення оптимальної технології культивування та екстрагування можуть бути технологічним джерелом одержання необхідних сполук. Раніше нами було визначено вплив умов вирощування *in vitro* на накопичення фруктанів у «бородатих» коренях цикорію [13]. Розроблення методики ефективного виділення і фракціонування фруктанів є продовженням цих досліджень з метою отримання поліфруктанів з культивованих *in vitro* коренів.

Матеріали і методи

В експериментах застосовували «борода-ті» корені цикорію *C. intybus* сорту Пала росса, які було отримано нами раніше [12]. Корені вирощували на агаризованому безгормональному середовищі Мурасіге–Скуга [14] зі зменшеною вдвічі концентрацією макроелементів (1/2 MS) за температури 24 °С протягом шести тижнів. Для екстрагування фруктанів корені промивали, висушували до постійної маси, перетирали у ступці (діаметр частинок менше 1 мм) і використовували для подальших досліджень.

Для екстрагування фруктанів по 50 мг висушених та розтертих коренів вміщували в епендорфи, додавали по 1 мл дистильованої води і витримували за температури 22 °С протягом 0,5, 1 та 24 год (низькотемпературне екстрагування). Після цього проводили теплову екстракцію фруктанів на водяній бані за температури 70, 80 і 90 °С упродовж 10, 20 і 30 хв. Екстракт відділяли центрифугуванням протягом 5 хв, 15 000 об/хв (у всіх експериментах використовували мікроцентрифугу Eppendorf 5415C).

З метою фракціонування фруктанів проводили 2 варіанти досліду: 1) розділення фракцій осаджуванням високомолекулярної фракції (ВМФ) при температурі +4 °С; 2) відділення низькомолекулярної фракції (НМФ) екстрагуванням за допомогою етанолу. Для реалізації першого варіанта відділяли надосадову рідину водних екстрактів, отриманих після нагрівання при 90 °С протягом 30 хв. Визначаючи вплив наявних центрів кристалізації на ефективність екстрагування, в епендорфи з 0,5 мл надосадової рідини додавали 15 крупинок активованого вугілля (діаметром близько 1 мм) і вміщували в холодильну камеру (+4 °С) для кристалізації ВМФ на поверхні вугілля. Через 7 діб вугілля ВМФ відділяли центрифугуванням протягом 5 хв, 15 000 об/хв.

Щоб розчинити фруктани, адсорбовані на поверхні вугілля або осаджені на стінках ємності, в епендорфи додавали 0,5 мл води та інкубували на водяній бані (90 °С, 30 хв), далі центрифугували протягом 5 хв при 15 000 об/хв. Надосадову рідину відбирали та визначали концентрацію фруктанів.

Для реалізації другого варіанта досліду висушені корені зважували, додавали 1 мл етанолу, інкубували на водяній бані за 80 °С протягом 30 хв для екстрагування НМФ фруктанів, центрифугували упродовж 5 хв при 15 000 об/хв. Надосадову рідину відбирали для визначення концентрації фруктанів.

Для екстракції ВМФ до осаду додавали 1 мл дистильованої води і витримували на водяній бані протягом 30 хв при температурі 90 °С, центрифугували 5 хв за 15 000 об/хв. Надосадову рідину відбирали для визначення кількості фруктанів.

Концентрацію фруктанів у екстрактах визначали із застосуванням методу МакРері і Слаттері [15]. Для цього в епендорфи з 0,5 мл екстракту додавали 0,5 мл 0,1%-го спиртового розчину резорцину і 0,5 мл 80%-го розчину HCl, перемішували і ставили на водяну баню (80 °С, 20 хв). Потім визначали оптичну густину розчинів за допомогою ФЕК (Eppendorf BioPhotometer plus) за довжини хвилі 550 нм. Концентрацію фруктанів оцінювали за калібрувальним графіком (калібрування за фруктозою).

Усі визначення проводили в десятикратній повторюваності. Статистичну обробку отриманих даних здійснювали в системі електронних таблиць Microsoft Excel, рівень вірогідності $P \leq 0,05$.

Результати та обговорення

У ході експериментів було отримано дані щодо залежності кількості екстрагованих фруктанів від тривалості попередньої екстракції при температурі +22 °С (T_1), температурі теплової екстракції (t°) та її тривалості (T_2) (рис. 1).

З наведених діаграм видно, що тривалість попереднього замочування рослинного матеріалу при температурі +22 °С практично не впливає на вихід фруктанів за режиму високотемпературної екстракції +90 °С протягом 30 хв.

У процесі екстрагування при температурі 70 °С (попереднє замочування коренів упродовж 24 год) вихід фруктанів був найменшим і становив за екстракції протягом 10, 20 та 30 хв $74 \pm 1,69$, $77 \pm 1,61$ та $86 \pm 5,82$ мг/г маси відповідно. Підвищення температури екстракції до +90 °С призводило до підвищення концентрації фруктанів у екстрактах в 1,7 раза порівняно з екстрагуванням при +70 °С упродовж 30 хв. Подальше підвищення температури екстрагування (до +95 °С) не спричинювало достовірного збільшення концентрації екстрагованих фруктанів. За збільшення тривалості температурної екстракції з 10 до 30 хв при +70 °С та +80 °С концентрація фруктанів у екстрактах зростала відповідно в 1,16 та 1,53 раза. Разом з тим збільшення тривалості температурної екстракції при +90 °С достовірно не підвищувало вихід екстрагованих фруктанів.

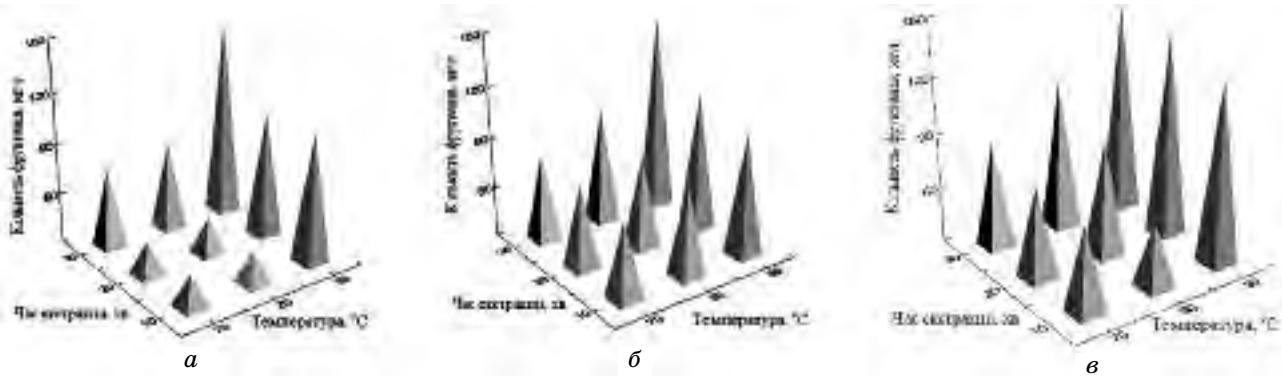


Рис. 1. Залежність кількості екстрагованих фруктанів від температури (t°) і тривалості теплової екстракції (T_2):

тривалість попередньої екстракції (T_1) при температурі $+4^{\circ}\text{C}$: а — 0,5 год; б — 1 год; в — 24 год ($P \leq 0,05$)

Максимальна кількість екстрагованих фруктанів за температури $+90^{\circ}\text{C}$ протягом 30 хв становила $146 \pm 8,77$ мг/г сухої маси коренів.

Отримані дані було використано для побудови математичної моделі процесу екстрагування та теоретичного визначення оптимальних параметрів цього процесу (статистичні обрахунки результатів експерименту проводили в системі електронних таблиць Microsoft Excel). У роботі наведено методику оптимізації, яка базується на поєднанні двох методів: кореляційно-регресійного аналізу та вибору оптимального плану.

Узагальнюючи існуючі підходи до оптимізації статичних процесів, було діагностовано відсутність методики, яка б комплексно забезпечувала розв'язання таких задач:

1) встановлення форми зв'язку між результативною ознакою процесу і набором факторних ознак;

2) визначення відповідних коефіцієнтів регресії;

3) знаходження найбільш прийнятних факторів для досягнення необхідного результату (розв'язання задачі оптимального планування з використанням методів лінійного програмування).

Для вирішення поставлених завдань доцільно використовувати узгоджене поєднання таких інструментів статистичного аналізу MS Excel:

1. Пакет статистичних функцій «Регресія».

2. Сервіс «Пошук рішення».

3. Параметри процесу, які визначають за допомогою інструмента «Регресія».

Після апроксимації експериментальних даних поліномом третього порядку отримано рівняння множинної регресії (T_1 — тривалість попередньої екстракції при темпера-

турі $+22^{\circ}\text{C}$, T_2 — тривалість теплової екстракції, t° — температура екстракції):

$$C = 12,395 \cdot t^{\circ} + 22,549 \cdot T_1^2 - 0,318 \cdot t^{\circ 2} - 0,01 \cdot T_2^2 - 0,938 \cdot T_1^2 + 0,002 \cdot t^{\circ 2} + 0,001 \cdot T_2^2.$$

Пропонована залежність має найкращі, порівняно з іншими дослідженими рівняннями, статистичні характеристики щільності зв'язку ($R = 0,9919$) та істотність зв'язку на основі критерію Фішера (F). Зв'язок є істотним з рівнем значущості α (0, 05; 0,01; 0,001), тобто цю модель можна використовувати для отримання прогнозних значень та прийняття рішень. Для запропонованої моделі F становить 1298, що на два порядки перевищує табличні значення.

Інструмент сервісу «Пошук рішення» дає змогу розв'язувати задачі лінійного програмування (ЛП) будь-якого рівня складності. Послідовність застосування цього інструмента відповідає послідовності поставлення задачі ЛП:

– встановлення критерію оптимізації (максимум, мінімум, значення);

– встановлення обмежень параметрів процесу.

Критерієм оптимізації в даному досліді є максимум кількості екстрагованих фруктанів.

У результаті використання сервісу «пошук рішення» було встановлено, що при $T_1 = 12,7$ год корені вбирають максимальну кількість води, і подальше збільшення цього параметра не впливає на зміну цільової функції.

Таким чином, з використанням побудованої математичної моделі процесу екстракції фруктанів теоретично обрано оптимальний режим екстрагування. Отримані експериментальні дані підтвердили правильність

наведених вище теоретичних розрахунків. Визначено, що за режиму теплової екстракції протягом 30 хв при температурі +90 °С екстрагується максимальна кількість фруктанів незалежно від часу попереднього замочування рослинного матеріалу за температури +22 °С.

Наступним кроком експерименту було розроблення технології розділення НМФ і ВМФ. Після аналізу наявних методів фракціонування фруктанів нами було виділено дві основні групи. Перша ґрунтується на різниці температур кристалізації ВМФ і НМФ фруктанів. Розділення ВМФ та НМФ доцільно здійснювати в температурному діапазоні від +1 °С до +4 °С [16]. Для збільшення кількості центрів кристалізації й ефективнішого розподілення рідкої та кристалічної фаз нами запропоновано використовувати активоване вугілля.

Друга група методів базується на відмінності в розчинності ВМФ і НМФ у етанолі [17, 18]. Проте ці методи мають низку недоліків. Так, екстрагування відбувається в присутності кислоти, що може призводити до гідролізу ВМФ. При цьому використовують етанол низьких концентрацій, що спричинює великі втрати високомолекулярної фракції. Водночас відомо, що ВМФ нерозчинні в 95% -му етанолі навіть під час нагрівання [15, 19]. Очевидною є необхідність модифікації наявних методик з метою їх оптимізації та підвищення ефективності екстрагування і розділення низькомолекулярних та високомолекулярних фруктанів. Нами було застосовано методики фракціонування фруктанів з кристалізацією ВМФ за зниження температури +4 °С та відділення НМФ шляхом екстрагування з використанням етанолу в концентрації 95%.

У результаті проведення експерименту із фракціонування фруктанів за допомогою кристалізації ВМФ за низьких температур було отримано такі дані (рис. 2). Додавання активованого вугілля як центрів кристалізації призводило до значного підвищення в екстрактах вмісту високомолекулярних фруктанів. Однак достовірного зменшення вмісту НМФ не спостерігали. Без використання додаткових центрів кристалізації вихід ВМФ становив 3% від загальної кількості фруктанів, а з додаванням активованого вугілля вихід ВМФ вдалося підвищити до 14% від їх загального вмісту.

У разі застосування 95%-го етилового спирту для розділення ВМФ та НМФ фруктанів вміст НМФ досягав $128,6 \pm 7$ мг/г маси коренів, а ВМФ — $29,5 \pm 1,9$ мг/г маси, що становить 18% від загального вмісту екстрагованих фруктанів.

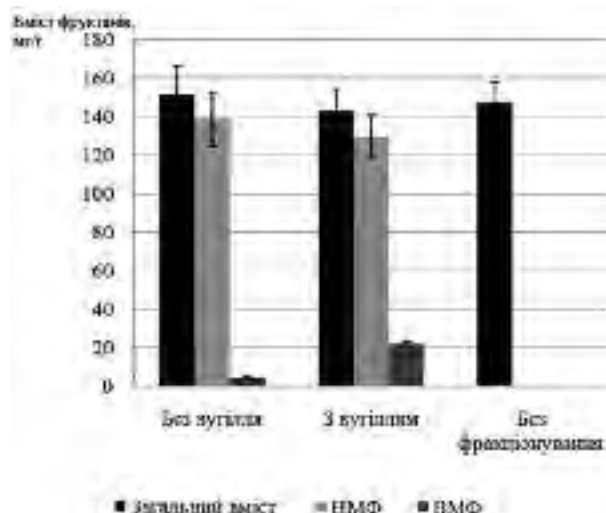


Рис. 2. Вміст низько- та високомолекулярних фруктанів за фракціонування з використанням активованого вугілля (+4 °С) ($P \leq 0,05$)

Таким чином, завдяки використанню 95%-го етилового спирту для фракціонування фруктанів ефективність процесу екстрагування ВМФ була вищою, ніж з активованим вугіллям — відповідно 18% та 14% від загального вмісту фруктанів у коренях.

Із застосуванням методу побудови математичної моделі теоретично на основі запропонованої нами методики, яка включає етапи побудови моделі процесу й автоматичний підбір оптимальних значень регульованих параметрів процесу, було визначено оптимальні умови екстрагування фруктанів із культури «бородатих» коренів *C. intybus* та експериментально підтверджено правильність отриманих розрахунків. Досліджено вплив таких параметрів, як тривалість попереднього замочування рослинного матеріалу, температура та тривалість екстракції під час нагрівання. Показано, що за режиму водної екстракції протягом 30 хв при 90 °С екстрагується основна маса фруктанів незалежно від тривалості попереднього замочування.

Встановлено, що фракціонування низько- та високомолекулярних фруктанів за допомогою 95%-го етанолу є більш ефективним для підвищення вмісту екстрагованої ВМФ і дає змогу отримати її в кількості 18% від загального вмісту. Визначено, що методики, які базуються на різницях температур кристалізації двох фракцій фруктанів, є менш ефективними.

Таким чином, у результаті експерименту було розроблено методику ефективного экс-

трагування фруктанів із «бородатих» коренів цикорію, яка передбачає подрібнення, екстрагування 95%-м етанолом упродовж 30 хв при температурі +22 °С; центрифугування (супернатант — фракція НМФ); повторне екстрагування водою протягом 30 хв

за температури 90 °С; центрифугування (супернатант — фракція ВМФ). Це дає змогу екстрагувати фруктани у кількості 158 мг з 1 г коренів, а також отримати фракцію ВМФ у кількості 18% від загального вмісту фруктанів.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Ranjitha Kumari B. D., Velayutham P., Anitha S.* A comparative study on inulin and esculin content of *in vitro* and *in vivo* plants of Chicory (*Cichorium intybus* L. cv. Lucknow Local) // *Adv. Biol. Res.* — 2007. — V. 1, N 1–2. — P. 22–25.
2. *Kok N. N., Taper H. S., Delzenne N. M.* Oligofructose modulates lipid metabolism alterations induced by a fat-rich diet in rats // *J. Appl. Toxicol.* — 1998. — V. 18, N 1. — P. 47–53.
3. *Delzenne N. M., Daubioul C., Neyrinck A. et al.* Inulin and oligofructose modulate lipid metabolism in animals: review of biochemical events and future prospects // *Br. J. Nutr.* — 2002. — V. 87, N 2. — P. 255–259.
4. *Abrams S. A., Griffin I. J., Hawthorne K. M. et al.* A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2005. — V. 82, N 2. — P. 471–4763.
5. *Özer D., Akin S., Özer B.* Effect of inulin and lactulose on survival of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-02 in acidophilus-bifidus yoghurt // *Food Sci. Technol. Int.* — 2005. — V. 11, N 1. — P. 19–24.
6. *Van der Meulen R., Avonts L., De Vuyst L.* Short fractions of oligofructose are preferentially metabolized by *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 // *Appl. Environm. Microbiol.* — 2004. — V. 70, N 4. — P. 1923–1930.
7. *Kilian S., Kritzinger S., Rycroft C. et al.* The effects of the novel bifidogenic trisaccharide, neokestose, on the human colonic microbiota // *World J. Microbiol. Biotechnol.* — 2002. — V. 18, N 7. — P. 637–644.
8. *Pool-Zobel B. L.* Inulin-type fructans and reduction in colon cancer risk: review of experimental and human data // *British J. Nutr.* — 2005. — V. 93, N 1. — P. 73–90.
9. *Taper H. S., Roberfroid M. B.* Nontoxic potentiation of cancer chemotherapy by dietary oligofructose or inulin // *Nutr. Cancer.* — 2000. — V. 38, N 1. — P. 1–5.
10. *Kaur N., Gupta A. K.* Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition // *J. Biosci.* — 2002. — V. 27, N 7. — P. 703–714.
11. *Kelly G.* Inulin-type prebiotics-a review: part 1 // *Altern. Med. Rev.* — 2008. — V. 13, N 4. — P. 315–329.
12. *Матвеева Н. А., Кіщенко О. М., Шаховський А. М., Кучук М. В.* Синтез інуліну в «бородатих коренях» цикорію, трансформованого за допомогою *Agrobacterium rhizogenes* // *Біотехнологія.* — 2011. — Т. 4, № 3. — С. 56–63.
13. *Матвеева Н. А., Кваско О. Ю.* Особливості накопичення поліфруктанів в трансгенних рослинах цикорію *Cichorium intybus* L. // *Вісн. укр. тов. генет. селекц.* — 2011. — Т. 9, № 1. — С. 65–69.
14. *Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture // *Physiol Plant.* — 1962. — V. 15, N 3. — P. 473–496.
15. *Оленников Д. Н., Танхаева Л. М.* Исследование колориметрической реакции инулина с резорцином в зависимости от условий ее проведения // *Хим. раст. сырья.* — 2008. — № 1. — С. 87–93.
16. *А. с. 487118 СССР, МКИ С 13 К 3/00.* Способ получения инулина / И. М. Федоткин, А. А. Герасименко, Л. Д. Бобровник, З. Б. Шапошникова, А. С. Дыченко, В. В. Зелинский. — Заявл. 05.03.93; Опубл. 05.10.75; Бюл. 37.
17. *А. с. 1214104 СССР, МКИ А 61 К 35/78.* Способ получения инулина / В. В. Зинченко, П. П. Хворост, Н. Ф. Комиссаренко, Н. Е. Воробьев, Г. В. Оболенцева, В. А. Бирюк, В. А. Мдгварели, С. И. Бакай. — Заявл. 20.08.84; Опубл. 28.02.86; Бюл. 8.
18. *Заявка РФ 93053968, МКИ А 61 К 35/78.* Способ получения инулина из топинамбура / И. П. Чепурной, С. М. Кунинцев, Э. Н. Швецов, В. Н. Гейко. — Заявл. 02.12.93; Опубл. 10.10.96; Бюл. 28.
19. *Asp N.-G.* Nutritional importance and classification of food carbohydrates / *Plant Polymeric Carbohydrates.* — F. Meuser, D. J. Manners, W. Seibel eds. — 1993. — Royal Soc. Chem., Cambridge, U.K. — P. 121–126.

ОПТИМИЗАЦИЯ ЭКСТРАКЦИИ ФРУКТАНОВ ИЗ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ *in vitro* «БОРОДАТЫХ» КОРНЕЙ ЦИКОРИЯ

К. С. Мазник
Н. А. Матвеева

Институт клеточной биологии и генетической
инженерии НАН Украины, Киев

E-mail: joyna56@gmail.com

Исследовали зависимость эффективности экстрагирования фруктанов от продолжительности предварительного замачивания, температуры и продолжительности высокотемпературной экстракции. Для исследования использовали высушенные и измельченные трансгенные корни цикория *Cichorium intybus* L. сорта Пала росса, полученные путем трансформации с использованием *Agrobacterium rhizogenes* с вектором pCB161. Применяли низко- и высокотемпературную экстракцию: без нагрева при +22 °C в течение 0,5; 1 и 24 ч и с нагревом при +70 °C, 80 °C и 90 °C в течение 10, 20 и 30 мин. Фракционирование фруктанов осуществляли двумя способами: разделением фракций путем кристаллизации — высокомолекулярной при +4 °C и отделением низкомолекулярной экстракцией 95%-м этанолом. Для определения концентрации фруктанов в экстрактах применяли метод Мак-Рери и Слаттери. На основании экспериментальных данных была построена математическая модель процесса экстракции фруктанов, проверена ее адекватность с помощью критерия Фишера и коэффициента детерминации, определены оптимальные параметры процесса экстракции с использованием методов линейного программирования. Экстрагирование в течение 30 мин при 90 °C без предварительного замачивания определено как наиболее технологичное, позволяющее экстрагировать основную массу фруктанов из трансгенных корней ($146 \pm 8,77$ мг/г сухой массы корней).

Оптимальным режимом выделения фруктанов из культуры «бородатых» корней цикория является экстрагирование при температуре +90 °C в течение 30 мин, продолжительность предварительного замачивания не влияет на эффективность экстракции. Наиболее эффективным режимом получения низко- и высокомолекулярной фракций фруктанов из трансгенных корней цикория является двухступенчатое экстрагирование 95%-м этанолом при +80 °C и водой при +90 °C; продолжительность каждого этапа составляла 30 мин.

Ключевые слова: фруктаны, *Cichorium intybus* L., фракционирование, оптимизация экстрагирования.

OPTIMIZATION OF FRUCTANS EXTRACTION FROM *in vitro* CULTIVATED CHICORY 'HAIRY' ROOTS

K. S. Maznik
N. A. Matvieieva

Institute of Cell Biology and Genetic
Engineering of National Academy of Sciences
of Ukraine, Kiyv

E-mail: joyna56@gmail.com

Dependence of efficiency of fructans extraction on soaking time, temperature and time of high temperature extraction was investigated. Dried and powdered chicory *Cichorium intybus* L. cv Pala rossa «hairy» roots obtained by *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation with pCB161 vector were used for study. There were used low- and high-temperature extractions without heating at +22 °C during 0.5; 1 and 24 hours and with heating at +70 °C, +80 °C and +90 °C during 10, 20 and 30 minutes. Fructans fractionation was conducted by two ways: separation of high molecular weight fraction by crystallization at +4 °C and low molecular weight separation by extraction with 95% ethanol. To determine fructans concentration in the extracts McRery and Slattery method was used. Based on the experimental data, a mathematical model of fructan extraction process was created. Its adequacy was tested with the Fisher criterion and coefficient of determination. Optimal parameters of the extraction process chosen using the methods of linear programming were determined. Extraction for 30 minutes at 90 °C without soaking identified as the most technological one. It allowed to extract fructans general amount from transgenic roots ($146 \pm 8,77$ mg/g of root dry weight). Optimal regime of fructan obtaining from chicory «hairy» roots is extraction at +90 °C for 30 min. Preliminary soaking time does not affect any effectiveness for such extraction. The most effective mode of obtaining of low- and high molecular fractions of fructans from transgenic chicory roots is two-stage extraction with 95% ethanol at +80 °C and water at +90 °C with the duration of each stage of 30 minutes.

Key words: optimization, fructans, *Cichorium intybus* L., extraction, optimized fractionation.