



Відпрацювання технології і доз застосування нативної та іммобілізованої інвертази у бджільництві

І. Ф. Безпалій¹, В. О. Постоєнко², С. В. Мерзлов¹, Л. П. Король-Безпала¹

ifbezpalii@ukr.net

¹Білоцерківський національний аграрний університет, пл. Соборна, 8/1, м. Біла Церква, Київська обл., 09117, Україна

²ННЦ «Інститут бджільництва імені П. І. Прокоповича», вул. Заболотного, 19, м. Київ, 03680, Україна

Підвищений вміст сахарози акацієвого меду пов'язаний із впливом двох факторів, які стримують інтенсивність процесу розщеплення дисахариду. З одного боку, це недостатня інвертазна активність глоткових залоз у робочих бджіл, а з іншого — нектар складається переважно із сахарози. Відповідно до ДСТУ 4497:2005, мед натуральний з акації білої має містити сахарози не більше, ніж 10 %, але дуже часто пасічники порушують технологію проведення медозбору і відкачують недостатньо зрілий продукт. Такий мед не допускається до реалізації. Для уникнення цих наслідків необхідно використовувати ензимний препарат інвертази на стадії процесу дозрівання нектару, що дозволить отримати продукт з меншою масовою часткою сахарози. Цей препарат інвертази використовують як харчову добавку кондитерської промисловості, як технологічний засіб для виробництва інвертованого сиропу з розчинів сахарози. Проте інформації щодо застосування штучної інвертази та її впливу на розщеплення дисахариду у бджільництві в друкованих джерелах недостатньо. У цій статті досліджено способи введення ензимного препарату в організм бджіл за переробки нектару. Встановлено дози застосування нативної та іммобілізованої інвертази у бджільництві. Експериментально встановлено, що найефективнішим способом внесення інвертази є задавання ензиму безпосередньо до комірок стільників перед розміщенням їх до гнізда для заповнення нектаром. Застосування 0,2% сухої сироватки молока у сиропі стабілізує і пролонгує дію ензиму у стільниках. Оптимальною дозою внесення ензиму у стільники є 2–3 мг на 50 мг сиропу з вмістом 0,2% сухої сироватки молока.

Ключові слова: нативна інвертаза, іммобілізована інвертаза, мед, біла акація, ензим, цукровий сироп, суха сироватка молока

Дозрівання меду — складне біохімічне перетворення нектару за впливу організму бджіл, основане на двох важливих взаємопов'язаних процесах: зменшення масової частки води до 16–18% та розщеплення складних цукрів на моноцукри за дії ензимів [1, 4, 14, 18]. Поряд з цим, сила сім'ї впливає на інтенсивність перетворення нектару та накопичення якіснішого меду. Але якою б не була дуже сильною сім'я, все одно у зрілому продукті залишається певна кількість дисахариду. Гідроліз сахарози відбувається під дією ензиму інвертази, який виділяється глотковими залозами бджіл. Щорічно у процесі розвитку бджолої сім'ї спостерігається нерівномірна інвертуюча здатність секрету, яка залежить як від віку самої робочої особини, так і від сезону

генерації. Весняні бджоли мають низьку активність ензиму, але в наступних поколіннях розвиток залоз посилюється [11, 13, 14, 18, 19].

На період медозбору з білої акації існує закономірність: слабо розвинені глоткові залози у робочих особин та переважання масової частки сахарози в нектарі. Акацієвий мед має підвищений попит, тому пасічники для збільшення його кількості часто відкачують недостатньо зрілий за вмістом сахарози мед, хоча такий мед повністю відповідає вимогам ДСТУ за масовою часткою води. Після аналізу в лабораторії такий продукт не допускають до реалізації і помилково вважають фальсифікованим цукровим сиропом. У літературних джерелах є рекомендації щодо повторного (через 3–4 місяці) проведення лабораторних

досліджень меду, оскільки у процесі зберігання інвертаза меду розщеплює сахарозу [1, 2, 7, 9, 10].

Українські та іноземні пасічники дедалі частіше використовують інвертований цукор для бджіл як заміник меду під час весняної підгодівлі для стимулювання матки, поповнення запасів корму на зиму тощо. Вже готовий продукт у 2–3 рази дорожчий, ніж цукор, тому пасічники власноруч виготовляють його за допомогою дії кислоти або ензимного препарату [7, 12, 15].

На ринку України у продаж надходить ензимний препарат інвертаза, який виробляється внаслідок спрямованої ферментації штаму *Penicillium canescens* з подальшим відділенням і концентруванням. Інвертазу використовують як харчову добавку в кондитерській промисловості [6, 16].

Застосування нативних ензимів має недоліки: їхня каталітична активність може знижуватись за дії рН середовища, температури, хімічних сполук тощо. Одним зі способів стабілізації ензимів є їх іммобілізація на носіях різної природи [8].

Використання ензимного препарату в галузі бджільництва вивчене недостатньо, тому ми провели дослідження щодо впливу нативної та іммобілізованої інвертази на процес дозрівання акацієвого меду.

Мета роботи — дослідити способи введення ензимного препарату в організм бджіл за переробки нектару і встановити дози застосування нативної та іммобілізованої інвертази в бджільництві.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на приватній пасіці в Білоцерківському р-ні Київської обл. під час медозбору з білої акації.

Для встановлення технології оптимального способу і розміру доз ензимного препарату в організм бджіл та у набризок нектару за дозрівання меду було сформовано сім груп — контрольну і 6 дослідних по 3 бджолині сім'ї у кожній [3]. Схему дослідів наведено у табл. 1 і 2.

Для встановлення кількості особин, які відвідують напувалки або годівниці у I і III дослідних групах із задаванням ензиму інвертази за межами вулика, проводили відеофіксацію мічених бджіл. За тиждень до початку цвітіння білої акації за допомогою маркерів з різними кольорами було помічено більшість робочих особин (приблизно 80%).

Для приготування розчину використано 3 мл рідини ензимного препарату інвертази (10000 ОД) на 50 мл води або цукрового сиропу (1:1) в розрахунку на одну стандартну рамку (435×300), яка доставляється до гнізда перед медозбором. У VI дослідній групі цукровий сироп містив 0,2% сухої сироватки молока.

Безпосередньо до комірок стільників розпиленням вносили по 50 мл розчину.

Лабораторні дослідження активності інвертази свіжозапечатаного меду проводили за методикою О. Є. Галатюка [5].

Таблиця 1. Схеми способів введення препарату інвертази
Table 1. The scheme of invertase drug administration methods

Група / Group	Спосіб введення
Контрольна Control	—
I дослідна I experimental	Задавання ензиму інвертази з водою у напувалках за межами вулика Feeding the enzyme invertase with water in drinkers outside the hive
II дослідна II experimental	Задавання ензиму інвертази з водою у напувалках всередині вулика Feeding the enzyme invertase with water in drinkers inside the hive
III дослідна III experimental	Задавання ензиму інвертази з цукровим сиропом у годівницях за межами вулика Feeding the enzyme invertase with sugar syrup in feeders outside the hive
IV дослідна IV experimental	Задавання ензиму інвертази з цукровим сиропом у годівницях всередині вулика Feeding the enzyme invertase with sugar syrup in the feeder inside the hive
V дослідна V experimental	Розчин ензиму інвертази розпилюють з водою безпосередньо у комірки The invertase enzyme solution is sprayed with water directly into the cells
VI дослідна VI experimental	Розчин ензиму інвертази розпилюють з цукровим сиропом із вмістом 0,2% сухої сироватки молока безпосередньо у комірки The invertase enzyme solution is sprayed with sugar syrup containing 0.2% whey powder directly into the cells

Таблиця 2. Схеми дослідів з визначення доз внесеного препарату інвертази в розрахунку на один стандартний стільник (435×300), мл
Table 2. The scheme of the experiment to determine the invertase drug doses per standard cell (435×300), ml

Група / Group	З водою With water	З цукровим сиропом із вмістом 0,2% сухої сироватки молока With sugar syrup containing 0.2% whey powder
Контрольна Control	—	—
I дослідна I experimental	0,5	0,5
II дослідна II experimental	1,0	1,0
III дослідна III experimental	1,5	1,5
IV дослідна IV experimental	2,0	2,0
V дослідна V experimental	2,5	2,5
VI дослідна VI experimental	3,0	3,0

Відбір проб меду, аналіз фізико-хімічних показників здійснювали згідно з ДСТУ 4497:2005 «Мед натуральний. Технічні умови» (ДСТУ 4497:2005, 2007) [9].

Результати й обговорення

За результатами аналізу зразків запечатаного меду з білої акації, у контрольній групі (натуральний продукт) активність інвертази становить 32,71 ОД/кг (табл. 3).

Варіант, де робочі бджоли мали заносити із водою препарат інвертази до гнізда і додавати до нектару (I дослідна група), не дав позитивних результатів, а показник активності ензиму залишився на рівні контрольної групи. У спостереженнях за міченими особинами відмічено незначний забір води з ензимом бджолами I дослідної групи.

Розміщення напувалок з водою у вуликах II дослідної групи вірогідно не вплинув на підвищення активності інвертази зрілого меду.

Використання цукрового сиропу як джерела препарату інвертази дещо змінює ситуацію надходження ензиму до продукту в процесі дозрівання. Наприклад, мед від бджолосімей III дослідної групи відзначився збільшенням активності інвертази на 3,9 ОД/кг. Візуально відмічено забір цукрового сиропу збагаченим ензимом інвертази бджолами-збирачками.

У зразках меду із сімей IV дослідної групи за згодовування цукрового сиропу з ензимом через годівниці над гніздом відбулось підвищення активності інвертази на 44,95% порівняно з контролем. Отже, цукровий сироп більше, ніж вода, підходить як джерело ензимного препарату інвертази. Відмінності у показниках III і IV дослідних груп пов'язані з розміщенням препарату стосовно гнізда та доступу протягом доби. Бджоли IV групи, переробивши принесений вдень нектар, мали доступ до цукрового сиропу вночі, тоді як збирачки з III групи такої можливості не мали, а зранку приступали до збирання нових порцій нектару і лише за припинення нектаровиділення шукали нові джерела взятку.

За внесення препарату інвертази безпосередньо до комірок стільників розприскуванням водного розчину (V дослідна група) ензимна активність меду збільшилась у 2,5 раза порівняно з контролем.

Розчин ензимного препарату у складі цукрового сиропу з вмістом 0,2% сухої сироватки молока (VI дослідна група), внесений у комірки стільників перед підготовкою до медозбору, підвищив активність інвертази зрілого меду на 14,9 ОД/кг порівняно з водним розчином (V дослідна група) і майже у 3 рази — порівняно з контролем.

Також було проведено дослідження щодо оптимальних доз ензимного препарату інвертази, внесеного безпосередньо до комірок стільників у вигляді розчину з дистильованою водою та з цукровим сиропом (1:1) із вмістом 0,2% сухої сироватки молока.

Таблиця 3. Активність інвертази меду із білої акації ($M \pm m$, $n=3$)
Table 3. Invertase activity of white acacia honey ($M \pm m$, $n=3$)

Група сімей Group of families	Активність інвертази, ОД/кг Invertase activity, UN/kg
Контрольна / Control	32,71±0,458
I дослідна / I experimental	32,39±0,516
II дослідна / II experimental	33,12±0,473
III дослідна / III experimental	36,61±0,597
IV дослідна / IV experimental	47,42±0,624
V дослідна / V experimental	82,40±0,736
VI дослідна / VI experimental	97,31±0,681*

Примітка. * — $P \leq 0,05$.

Note. * — $P \leq 0,05$.

Таблиця 4. Дія різних доз ензиму інвертази за дозрівання меду з білої акації ($M \pm m$, $n=3$)

Table 4. The effect of different doses of the enzyme invertase during the ripening of honey from white acacia ($M \pm m$, $n=3$)

Група / Group	Вміст у натуральному продукті / Content in a natural product, %			
	варіант із водою option with water		варіант із цукровим сиропом option with sugar syrup	
	сахароза	моноцукри	сахароза	моноцукри
Контрольна / Control	4,95±0,254	75,64±0,810	4,95±0,254	75,64±0,810
I дослідна / I experimental	4,73±0,342	75,91±2,716	4,45±0,318	76,23±0,806
II дослідна / II experimental	4,64±0,380	76,00±1,097	3,81±0,196*	76,85±0,908
III дослідна / III experimental	4,25±0,411	76,41±3,120	2,21±0,280**	78,37±0,216*
IV дослідна / IV experimental	2,85±0,196*	77,78±1,206	0,18±0,015***	80,44±0,305*
V дослідна / V experimental	2,42±0,203**	78,10±0,415*	0,17±0,009***	80,43±0,215**
VI дослідна / VI experimental	1,75±0,215**	78,89±0,408*	0,15±0,011***	80,46±0,230**

Примітка. * — $P \leq 0,05$; ** — $P \leq 0,01$; *** — $P \leq 0,001$.

Note. * — $P \leq 0,05$; ** — $P \leq 0,01$; *** — $P \leq 0,001$.

За результатами аналізу зразків свіжозапечатаного білоакацієвого меду, в натуральному продукті контрольної групи сімей було встановлено вміст сахарози 4,95% та 75,64% моноцукрів (табл. 4).

Внесення ензимного препарату із водою у I–III дослідних групах (0,5–1,5 мг на 50 мл води на 1 стандартний стільник 435×300) вірогідно не сприяло зниженню вмісту сахарози у меді.

За внесення 2 мг ензиму на 50 мл води (IV дослідна група) вміст сахарози у продукті зменшився в 1,73 раза.

Найвищий рівень гідролізу сахарози був у VI дослідній групі: зменшення вуглеводу у 2,82 раза щодо контролю.

За збільшення вмісту ензиму у воді масова частка моноцукрів у меді підвищується на 0,27–3,25%. Варто зазначити, що в V і VI дослідних групах різниця була вірогідною.

За додавання ензиму в складі цукрового сиропу з вмістом 0,2% сухої сироватки молока у I дослідній групі зниження вмісту сахарози було на рівні 0,5% щодо контролю.

У II та III дослідній групі вміст сахарози у меді був меншим на 1,14% ($P \leq 0,05$) та 2,74% ($P \leq 0,001$).

За внесення максимальної дози ензиму (3 мг на 50 мг сиропу) вміст сахарози знижується у 33 рази ($P \leq 0,001$) щодо контролю.

За порівняння дії ензиму у складі сиропу до дії ензиму у складі води, у VI дослідній групі виявлено значне покращення гідролізу сахарози у моноцукри — 11,7 раза.

Висновки

1. Найефективнішим способом внесення інвертази є задавання ензиму безпосередньо до комірок стільників перед розміщенням їх до гнізда для заповнення нектаром.

2. Застосування 0,2% сухої сироватки молока у сиропі стабілізує і пролонгує дію ензиму у стільниках. Це поєднання змушує робочих бджіл додавати вкрай необхідний та дефіцитний у цей період ензим інвертази до продукту, який перетворюється на мед.

3. Оптимальною дозою внесення ензиму у стільники є 2–3 мг на 50 мг сиропу з вмістом 0,2% сухої сироватки молока.

Перспективи подальших досліджень

У подальшому плануємо вивчити застосування іммобілізованої інвертази під час медозборів з озимого ріпаку, липи і соняшнику та розрахувати оптимальні дози внесення ензиму.

1. Ahanyn AV. *Honey and its research*. Saratov, Saratov University Publishing House, 1985: 152 p. (in Russian)

- Aumeeruddy MZ, Aumeeruddy-Elalfi Z, Neetoo H, Zengin G, Blom van Staden A, Fibrich B, Lambrechts IA, Rademan S, Szuman KM, Lall N, Mahomoodally F. Pharmacological activities, chemical profile, and physicochemical properties of raw and commercial honey. *Biocat. Agricult. Biotechnol.* 2019; 18: 101005. DOI: 10.1016/j.bcab.2019.01.043.
- Brovarskyi VD, Brindza Y, Otchenashko VV, Povochnikov MH, Adamchuk LO. *Methods of research in beekeeping*. A textbook. Kyiv, Vinichenko Publishing House, 2017. 166 p. (in Ukrainian)
- Ceksteryte V, Racys J. The quality of syrups used for bee feeding before winter and their suitability for bee wintering. *J. Apicult. Sci.* 2006; 50 (1): 5–14. Available at: <http://www.jas.org.pl:81/The-quality-of-syrups-used-for-bee-feeding-before-winter-and-their-suitability-for-bee-wintering,0,75.html>
- Galatuyk A, Tihonova T, Lazareva L, Shtangret L, Shapoval G, Koval O, Galatuyk O. Determination of invertase and diastase contents for the assessment of honey quality. *Ukr. Black Sea Region Agr. Sci.* Mykolaiv, 2013; 4 (75): 48–54. Available at: <https://visnyk.mnau.edu.ua/n75v4r2013t2c1galatuyk> (in Ukrainian)
- Invertase (sucrose). Enzim Biotech. Available at: <https://invertase.enzim.biz>
- Lichtenberg-Kraag B. Evidence for correlation between invertase activity and sucrose content during the ripening process of honey. *J. Apicult. Res.* 2014; 53 (3): 364–373. DOI: 10.3896/IBRA.1.53.3.03.
- Merzlov SV. Immobilization of exogenous phytase with the participation of domestic natural minerals and the use of the obtained feed additive in the diets of broiler chickens. *Sci.-Tech. Bull. Inst. Anim. Biol. SCIVP Vet. Med. Prod. Feed Add.* 2009; 10 (3): 229–232. (in Ukrainian)
- National Standard of Ukraine 4497-2005. Natural honey. Specifications: Kyiv, Derzhspozhyvstandart Ukrainy, 2005. 36 p. (in Ukrainian)
- Postoienko V, Lazareva L, Iaremchuk A. The main indicators to measure the quality and safety of honey bee in Ukraine and their harmonization with EU requirements. *East Eur. Sci. J.* 2019; 12 (52): 14–21. (in Ukrainian)
- Razanov SF, Bezpalyy IF, Bala VI, Donchenko TA. *Technology of beekeeping production*. Kyiv, Agrarian Education, 2010: 277 p. (in Ukrainian)
- Sahin H, Kolyali S, Beykaya M. Investigation of variations of invertase and glucose oxidase degrees against heating and timing options in raw honeys. *J. Chem.* 2020; 1: 5398062. DOI: 10.1155/2020/5398062.
- Sak-Bosnar M, Sakač N. Direct potentiometric determination of diastase activity in honey. *Food Chem.* 2012; 135 (2): 827–831. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.05.006.
- Simpson J, Riedel IBM, Wilding N. Invertase in the hypopharyngeal glands of the honey bee. *J. Apicult. Res.* 1968; 7 (1): 29–36. DOI: 10.1080/00218839.1968.11100184.
- Taran SI. Honey productivity and invertase activity of Ukrainian bees. *SNAU Bull. Livestock.* Sumy, 2014; 2/2 (25): 98–102. (in Ukrainian)
- Ukrainets AI, Shtanheeva NI, Klymenko LS. *Technologies of sugar products and sugar substitutes*. A textbook. Kyiv, NUKhT, 2009: 231 p. (in Ukrainian)
- Winter H, Huber SC. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzymes. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2000; 35 (4): 253–289. DOI: 10.1080/10409230008984165.
- Winter H, Huber SC. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzymes. *Crit. Rev. Plant Sci.* 2000; 19 (1): 31–67. DOI: 10.1080/07352680091139178.
- Zherebkyn MV. Invertase activity and medical productivity. *Beekeeping.* 1970; 11: 10–11. (in Russian)

Development of technology and doses of native and immobilized invertase in beekeeping

I. F. Bezpalyi¹, V. O. Postoienko², S. V. Merzlov¹, L. P. Korol-Bezpal¹
ifbezpalyi@ukr.net

¹Bila Tserkva National Agrarian University,
8/1 Soborna sq., Bila Tserkva, Kyiv region, 09117, Ukraine

²HSC "Institute of Beekeeping named after P. I. Prokopovich",
19 Zabolotnoho str., Kyiv, 03680, Ukraine

The increased sucrose content of acacia honey is associated with the influence of two factors that restrain the intensity of the disaccharide breakdown process. On the one hand, this is an insufficient invertase activity of the pharyngeal glands in worker bees, and on the other hand, nectar consists mainly of sucrose. According to National Standard of Ukraine 4497:2005, natural honey from white acacia should contain no more than 10% sucrose, but very often beekeepers violate the technology of honey collection and an insufficiently mature product is pumped out. Such honey is not allowed for sale. To avoid such consequences, the use of the enzyme preparation invertase at the stage of the nectar maturation process will contribute, it will make it possible to obtain a product with a lower mass fraction of sucrose. This invertase preparation is used as a food additive in the confectionery industry as a technological tool for the production of invert syrup from sucrose solutions. However, the available information in printed sources on the use of artificial invertase and its effect on the breakdown of disaccharide in beekeeping has not been sufficiently studied. The article investigates the methods of introducing an enzyme preparation into the body of bees for processing nectar. The doses of native and immobilized invertase in beekeeping have been determined. It has been experimentally established that the best way to introduce invertase is to add the enzyme directly to the cells of the combs before placing them in the nests for filling with nectar. Application of 0.2% milk whey powder in syrup stabilizes and prolongs the effect of the enzyme in the honeycomb. The optimal dose of enzyme introduction into the honeycomb is 2–3 mg per 50 mg of syrup with 0.2% milk whey powder.

Key words: native invertase, immobilized invertase, honey, white acacia, enzyme, sugar syrup, milk whey powder