

Профессор В.А. Голыбин, доцент В.А. Федорук,
(Воронеж. гос. ун-т. инж. технол.) кафедра технологии сахаристых веществ,
тел. (473) 255-07-51
директор А.А. Ткачев
(ООО «Перелешинский сахарный комбинат»)

Активность инвертазы сахарной свеклы при ее хранении и экстрагировании сахарозы

Исследованы факторы, влияющие на активность фермента инвертазы. Предложены мероприятия по снижению неучтенных потерь сахарозы в производстве сахара-песка из свеклы.

Investigated the factors influencing on the activity of the enzyme invertase. Proposed activities for the reduction of unaccounted losses of sucrose in the beet sugar production.

Ключевые слова: сахарная свекла, инвертаза, активность

Ферментативная система свеклы сложна и многообразна. Активное участие в обмене веществ при хранении свекловичного корня принимает фермент инвертаза или сахароза, под влиянием которого протекает инверсия сахарозы в глюкозу и фруктозу, а также синтез сахарозы из моноз. В работах Б. А. Рубина и М. З. Хелемского [1] установлено, что инвертаза имеется в головке корня и в его поверхностном слое. В сердцевине и хвосте фермент практически отсутствует. Таким образом, инвертаза сосредотачивается в тех частях корня свеклы, где углеводный обмен протекает наиболее интенсивно.

Синтезирующая роль фермента заметно проявляется при наличии большого количества материала, из которого формируются более сложные соединения. При прорастании корней в начале второго года жизни корнеплода, наоборот, наиболее энергично выражена гидролитическая деятельность инвертазы. Потребление продуктов инверсии сахарозы (дыхание, деятельность микроорганизмов и др.), вывод их из среды, в которой происходит работа инвертазы, обуславливает активное протекание гидролиза и практически устраняет возможность обратного действия – синтеза.

Не менее важную роль играет подвяливание корнеплодов, вызывающее усиление гидролитического действия инвертазы. По данным К. Вукова [2], в сильно подвяленной свекле за 6-10 суток значительно ухудшились такие показатели, как содержание редуцирующих веществ (РВ), аминного азота и др.

В исследованиях В. А. Князева и др. [3] показано, что потеря 15 % массы корня повышает активность инвертазы в 6 раз, что приводит к заметному снижению массы сахарозы и увеличению доли моносахаридов.

К. Вуков в условиях диффузионного процесса определял активность инвертазы и установил, что между нею и физическим состоянием корнеплода свеклы существует определенная зависимость. Обнаружено, что с увеличением в свекле содержания РВ повышается активность инвертазы [2].

По мере увеличения длительности хранения свеклы, а также при повышении температуры воздуха активность инвертазы повышается. Данные по ее изменению при хранении свеклы на Сальковском сахарном заводе приведены в табл. 1 [1].

Т а б л и ц а 1

Изменение содержания РВ при хранении

Месяц	Содержание РВ, мг на 1 г СВ
Октябрь	4,20
Ноябрь	5,46
Декабрь	6,60
Март	7,22

Содержание РВ является косвенным показателем активности фермента инвертазы.

Значительный рост активности инвертазы в последний период хранения вполне согласуется с накоплением в свекле РВ.

Нижним пределом для жизнедеятельности фермента в живой клетке является температура, при которой еще не вся вода перешла в

лед. Во ВНИИСП [1] были выполнены исследования по влиянию температуры на активность инвертазы (табл. 2).

Т а б л и ц а 2

Изменение содержания РВ
при различной температуре

Температура, °С	Содержание РВ, мг на 1 г СВ
-16	3,7
0...+2	7,2
+10	10,8

Из табл. 2 видно, что при отрицательных температурах активность инвертазы минимальна. Ее активность возрастает вместе с оттаиванием замороженной свеклы [3].

Изменение активности инвертазы проявляется в величинах потерь сахарозы в процессе хранения свеклы при разной температуре. Например, суточные ее потери при 3,5 °С составляют 0,02 %; при 16 °С – 0,05 %; при 23 °С – 0,075 %; при 30 °С – 0,115 % к массе свеклы [4]. Эти данные для свеклы сразу после уборки значительно отличаются от таковых для установившегося периода хранения: при 3 °С – 0,007 %; при 12 °С – 0,019 % [1].

Гидродинамическая обстановка в наклонных диффузионных аппаратах весьма незначительно влияет на величину неучтенных потерь сахарозы за счет ее химического разложения. Разница в их значениях для реальных аппаратов и в случае идеального вытеснения очень мала (0,005 - 0,007 % к массе свеклы), что находится в пределах ошибки определения исходных величин рН и температуры. На основании этого сделан вывод, что главной причиной значительных неучтенных потерь сахарозы (0,164 - 1,350 % к массе свеклы [5]) является ее ферментативное расщепление в процессе диффузионного извлечения сахарозы.

В работе А. Я. Загорулько [7] показано, что с увеличением продолжительности производственного сезона неучтенные потери сахарозы за счет действия фермента инвертазы в диффузионных аппаратах заметно возрастают. Так, если в 12-й декаде производственного сезона они составляли 0,20 %, то в 18-й – 1,20 % к массе свеклы. Неучтенные потери сахарозы за счет образования органических кислот при этом изменялись незначительно – от 0,10 до 0,16 % к массе свеклы, причем к концу сезона наблюдалось их снижение с 0,16 до 0,04 %.

В наибольшей степени в составе растворимых органических несахаров диффузионного сока представлена молочная кислота [6]. В процессе диффундирования ее массовые доли в диффузионном соке увеличиваются в 10 и более раз в сравнении с клеточным соком свеклы. В отдельных случаях при неблагоприятных условиях хранения свеклы неучтенные потери сахарозы при диффундировании за счет образования органических кислот примерно равны потерям вследствие деятельности ферментов. Во второй половине производственного сезона преобладают потери вследствие образования в соке моносахаров, что объясняется повышением активности инвертазы. В исследовании А. Я. Загорулько обнаружено ее возрастание с 5 мг РВ/ 1 г свеклы в сентябре до 14 мг РВ/1 г свеклы в январе (свекла зоны свеклосеяния Воронежской области), при этом доли РВ в свекле соответственно составили 0,18 % и 0,53 % к ее массе. Автором сделан вывод, что неучтенные потери в диффузионном аппарате зависят, прежде всего, от прироста РВ в процессе хранения свеклы, а также присутствия дрожжевых клеток в диффузионном соке. Хотя главной причиной неучтенных потерь сахарозы является тканевая инвертаза, не исключается возможность инвертирования и за счет инвертазы дрожжей. Например, при 30 - 37 °С доля инвертированной дрожжевыми ферментами сахарозы изменялась от 0 до 100 % от общей величины прироста РВ в процессе инкубации свекловичного сока. Обнаружено существенное влияние продолжительности пребывания сока в диффузионном аппарате при температуре ниже 65 °С на накопление в нем РВ. За 5 мин неучтенные потери сахарозы составили 0,10 %, за 28 мин – 0,56 % к массе свеклы.

Таким образом, неблагоприятные условия хранения свеклы вызывают активизацию деятельности ферментов, что приводит к интенсификации распада сахарозы в диффузионных аппаратах, накоплению РВ, которые разрушаются в условиях известково-углекислотной очистки с накоплением вредных малоудаляемых несахаров.

Важнейшим фактором, влияющим на эффективность диффундирования, является температура. В исследовании [8] показано, что температура в наибольшей степени влияет на неучтенные потери сахарозы, вызванные деятельностью микроорганизмов и ферментов. В начале сезона при переработке здоровой свеклы активность инвертазы невысокая и потери

сахарозы не превышают 0,1 % к массе свеклы. После хранения свеклы в неблагоприятных условиях неучтенные потери сахарозы возрастают в 5-10 раз, что обусловлено также и повышением активности инвертазы на 220 – 240 %. Для уменьшения вредных последствий ферментативных процессов авторы рекомендуют в диффузионных аппаратах повышенный температурный режим. Считается целесообразной работа диффузионного аппарата в режиме интенсивного головного нагревания свекловичной стружки с повышением температуры ошпаривающего сока с 70 до 80 °С.

Аналогичное предложение по предварительному нагреванию свекловичной стружки перед поступлением в диффузионный аппарат было реализовано в производственных условиях [9]. В отдельном устройстве при вводе пара свекловичная стружка нагревалась до 68 °С, после чего поступала в 1-ую зону диффузионного аппарата. За счет поддержания оптимального температурного режима снизились потери сахарозы в жоме на 33 - 41 %, уменьшился переход в сок общего азота, что авторы объясняют тепловой денатурацией белка, снизилось содержание в диффузионном соке минеральных нес сахаров. Содержание РВ в диффузионном соке в варианте с предварительным нагреванием стружки снизилось в сравнении с обычным способом на 27 %. Эффект не столь велик, теоретически ожидаемая величина могла быть больше, так как при обычном способе стружка в 1-ой зоне весьма медленно нагревается от 8 до 64 °С (по данным авторов) и здесь сохраняется интенсивная ферментативная деятельность. Объяснением этого может являться относительно высокое качество свеклы (низкие массовые доли РВ) и диффузионного сока во время испытаний аппарата – чистота 86 %.

Таким образом, даже в оптимальных температурных условиях при быстром нагревании стружки не удается инактивировать инвертазу – прирост РВ в диффузионном соке в сравнении со свекловичным соком составил 22 %. К недостаткам указанного способа нагревания стружки можно отнести повышенную температуру отбираемого диффузионного сока (68 °С), что делает невозможным осуществление холодного горячего основной дефекации.

Нами исследовалось поведение свекловичной стружки с мезгой в условиях, приближенных к производственным. Температурный режим экстрагирования поддерживался за счет помещения сосудов с исследуемой соко-стружечной смесью в термостат с заданной темпе-

ратурой. При 60 °С, что является характерной для второй половины зоны нагревания в наклонном диффузионном аппарате, проходят с достаточно высокой интенсивностью ферментативные процессы, термофильные бактерии также продуцируют различные продукты, в основном, по мнению многих исследователей, молочную кислоту. Отдельные виды гидролаз (в частности β-фруктофуранозидаза) с повышением температуры от 30 до 65 °С увеличивают свою активность примерно в 7,4 раза. Такие виды инвертазы обнаружены в сахарном тростнике и сахарной свекле, кроме того, они могут быть синтезированы многими бактериями – уксуснокислыми, молочнокислыми, сернокислыми. В больших количествах этот фермент вырабатывается бактериями *E. coli* и *B. subtilis*, которые присутствуют в значительных концентрациях в диффузионном соке, получаемом в аппаратах непрерывного действия. Деятельность мезофильных бактерий, имеющих более низкое значение температурного оптимума, в этих условиях практически прекращается.

В производственных условиях стружку получают с определенным процентом брака – по норме не более 3 %, а фактически от 5 - 7 % до 10 - 15 %. Нами проведены опыты по установлению влияния присутствия повышенных долей брака в стружке на степень перехода сухих веществ в экстракт. Наблюдается явная тенденция увеличения РВ в исследуемых растворах с повышением доли мезги в стружке.

Превышение темпов прироста массовой доли РВ по отношению к сумме сухих веществ является следствием интенсивного перехода более мобильных моносахаров относительно дисахарида сахарозы и других компонентов клеточного сока. Кроме того, в свекле длительного хранения (60 и более суток) активность инвертазы значительно выше, чем в свекле в сентябре – октябре [2]. Таким образом, за счет более активной деятельности фермента происходит заметное накопление в растворе моносахаров. Массовая доля РВ в клеточном соке свеклы составляла 0,14 %. С учетом разбавления (вводили 130 см³ дистиллированной воды на 100 г стружки) массовая доля РВ при полном их переходе из клеточного сока составила бы $(0,14 \times 92,1) / 130 = 0,10$ % к массе раствора. Если бы в исследуемой системе инвертаза не проявляла гидролитической активности, массовая доля РВ должна составить 0,0148 %, а в наших опытах она была равна 0,020 %; для стружки с наличием 15 % брака ожидаемая массовая доля РВ должна состав-

лять 0,0168 %, а в опытах обнаружена величина 0,028 % (более чем в 1,5 раза выше). В первом случае прирост РВ составил 7 мг на 100 г стружки в час, во втором – более 14 мг (0,0112 % к массе раствора). Абсолютные величины прироста РВ в экстракте невелики, однако следует принять во внимание низкую температуру в опытах и высокую стерильность – тщательное отмывание корнеплодов от примесей и применение в качестве экстраги-

рующей жидкости подкисленной дистиллированной воды с рН 6,3.

При исследовании процесса экстракции сахарозы в условиях повышенной температуры (75 °С) установлено (таблица 3), что за время нагревания идеальной свекловичной стружки (без брака) интенсивно продуцировали лактобактерии и действовали ферменты, инвертирующие сахарозу.

Т а б л и ц а 3

Зависимость показателей экстракта от продолжительности процесса экстракции

Продолжительность экстракции, мин	Показатели экстракта						
	рН ₂₀	СВ, %	Сх, %	Ч, %	РВ, %	Б, %	МК, %
30	6,10	7,50	6,35	84,6	0,074	0,24	0,0075
60	5,80	8,60	7,30	84,9	0,081	0,29	0,0080
90	5,70	8,65	7,40	85,5	0,086	0,34	0,0084
120	5,60	8,70	7,45	85,6	0,093	0,38	0,0081

Из таблицы 3 видно, что с увеличением продолжительности диффузионного процесса даже для свекловичной стружки высокого качества установлено увеличение в экстракте содержания РВ на 25,6 %, белковых веществ – на 58 %, молочной кислоты – на 12 %.

При ухудшении качества свекловичной стружки (содержание брака 5 %) в аналогичных условиях экстрагирования сахарозы прирост РВ в получаемом диффузионном соке составил 41 %, при большем снижении качества стружки (содержание брака 10 %) массовая доля РВ в диффузионном соке возросла на 54 %.

Наращение РВ в экстрактах можно обосновать с позиций активизации ферментативной деятельности при резком, скачкообразном изменении условий жизнедеятельности микроорганизмов. Активность инвертазы обусловлена многими факторами – концентрацией субстрата, величиной рН, массовой долей воды в системе. Установленное в наших опытах увеличение РВ в экстрактах с повышенным процентом брака в стружке можно объяснить изменением химического состава раствора. В клеточном соке свеклы доля СВ около 21 %, в экстракте эта величина всегда меньше – в наших опытах примерно в 2 раза. Ранее установлено, что в интервале массовых долей сахарозы в растворе 0,17 - 2,0 М (6 - 70 %) скорость инвертирования пропорциональна концентрации воды. В работе [4] показано, что с повышением сахаристости свеклы потери сахарозы при хранении снижаются, т.е. активность инвертазы частично подавляется. По ме-

ре увеличения доли механически разрушенных клеток появляются возможности высвобождения фермента – тканевой кислой инвертазы, и ее перевода в другие условия, резко отличающиеся от стабильного состояния. Ранее показано, что кислая инвертаза, имеющая оптимум гидролитической деятельности при рН 4,0 - 5,3, в значительной мере сосредоточена в клеточных стенках ткани свеклы, где она расщепляет поступающую сахарозу [4].

По мере ухудшения качества стружки с увеличением процента брака в процессе диффундирования в экстракт более полно и беспрепятственно переходит все содержимое травмированных и механически разрушенных растительных клеток – минеральные соли, аминокислоты, макромолекулы белка, пептиды, что создает для ферментативной деятельности благоприятные условия для гидролиза сахарозы. При повышении степени измельчения свекловичной ткани высвобождается значительная доля тканевой инвертазы, созданные условия способствуют активизации ее деятельности.

После быстрого освобождения из растительной ткани фермент попадает в среду, в которой присутствуют молочнокислые бактерии. Считается, что молочнокислые бактерии и некоторые другие микроорганизмы, например дрожжи, приспособлены к совместному развитию на одних тех же питательных средах и их отношения можно назвать симбиотическими [10]. Молочнокислые бактерии, действуя антагонистически на другие микроорга-

низмы (гнилостные, маслянокислые), создают благоприятные условия для активной деятельности кислой инвертазы. Отдельные виды молочнокислых бактерий обладают более совершенной системой протеолиза – расщепляя сложные азотсодержащие соединения, они создают сбалансированный субстрат для фермента инвертазы.

С другой стороны, сами молочнокислые бактерии, проявляя антагонизм к другим микроорганизмам, обеспечивают интенсивное накопление в растворе собственного продукта – молочной кислоты. Ранее установлено, что оптимальным значением pH для активного расщепления сахарозы с помощью фермента β -фруктофуранозидазы является 4,2 - 4,5 [11]. При pH 5 активность инвертазы снижается до 60 %, а при pH 6,0 – до 24 %. Т.е., если жидкая среда малобуферная и в ней присутствуют молочнокислые бактерии, то со снижением pH (например до 5,5) в процессе диффузирования при пониженной температуре (65-68 °C) активность инвертазы может увеличиться более чем в 3 раза в сравнении с ее нахождением в клеточном соке с pH 6,3. Прямым подтверждением этого являются производственные данные по увеличению неучтенных потерь сахарозы в диффузионном аппарате с 0,09 - 0,17 до 0,43 % при снижении pH сока до 4,9 - 5,2 [12].

С учетом изложенного подтверждается преобладающее влияние на снижение качества диффузионного сока накопления в нем в процессе извлечения сахарозы из свекловичной стружки вредных несахаров – РВ и молочной кислоты. Для уменьшения неучтенных потерь сахарозы в свеклоперерабатывающем отделении рекомендуется:

- создание оптимальных условий при хранении свеклы с минимальным накоплением в ней РВ;
- обеспечение полной поверхностной химической стерилизации корнеплодов вымытой свеклы;
- получение свекловичной стружки с минимальным содержанием мезги и мелких ее фрагментов (брак);
- поддержание оптимальной величины pH вводимой питательной воды и среды в диффузионном аппарате;
- соблюдение заданного температурного режима по зонам диффузионного аппарата с обязательным условием быстрого нагревания (менее 8 мин) свекловичной стружки до температуры инактивации фермента.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Хелемский, М. 3. Технологические качества сахарной свеклы [Текст] / М. 3. Хелемский. – М.: Пищевая промышленность, 1973. – 256 с.
- 2 Vukov, K. Physik und chemie der Zuckerrübe als Grundlage der Verarbeitungsverfahren [Text] / K. Vukov. – Budapest: Akademiai Kiado, 1972. – 458 p.
- 3 Князев, В. А. Влияние подмораживания свеклы на результаты ее хранения и переработки [Текст] / В. А. Князев // Сахарная промышленность, 1981. – № 10. – С. 40-42.
- 4 Князев, В. А. Снижение потерь сахара при промышленном хранении сахарной свеклы за счет снижения интенсивности дыхания [Текст] / В.А. Князев, Н.И. Павлюченко, М.П. Пельц и др. // Сахарная промышленность. – 1989. – № 5. – С. 44.
- 5 Терития, Н. А. Разложение сахарозы в экстракторах свеклосахарного производства [Текст] / Н. А. Терития, А. И. Фельдман, А. А. Липец и др. // Известия вузов. Пищевая технология. – 1984. – № 4. – С. 114-116.
- 6 Бугаенко, И. Ф. Анализ потерь сахара в сахарном производстве и пути их снижения [Текст] / И. Ф. Бугаенко. – Курск: АП «Курск», 1994. – 128 с.
- 7 Загорулько, А. Я. Исследование и разработка методов контроля и путей снижения потерь сахара в свеклосахарном производстве [Текст]: автореф. дисс. ... докт. техн. наук.: 05.18.05 / А. Я. Загорулько. – Киев: КТИПП, 1974. – 48 с.
- 8 Погорелова, Н. В. Выбор оптимального температурного режима при экстракции сахара из свеклы [Текст] / Н. В. Погорелова, В. Н. Щеголев // Сахарная промышленность: Обзорная информация. – 1981. – № 10. – С. 1-4.
- 9 Олейник, И. А. Влияние некоторых параметров на процесс экстрагирования сахара из свекловичной стружки [Текст] / И. А. Олейник, А. В. Сарыч, В. В. Манк и др. // Сахарная промышленность. – 1987. - № 9. – С. 21-23.
- 10 Квасников, Е. И. Молочнокислые бактерии и пути их использования [Текст] / Е. И. Квасников, О. А. Нестеренко. – М.: Наука. – 1975. – 390 с.
- 11 Букова, В. Б. Разработка технологии получения β -фруктофуранозидазы *Aspergillus awamori*, штамм чешский [Текст]: автореф. дисс. ... канд. техн. наук. / В. Б. Букова. – МТИПП, 1983. – 36 с.

12 Кузьменко, Б. П. Микробиологическому контролю – больше внимания [Текст] / Б. П. Кузьменко // Сахарная промышленность. – 1975. – № 3. – С. 38-39.

REFERENCES

1 Helemskii, M. Z. Technological quality of sugar beet [Text] / M. Z. Helemskii. – M.: Food Industry, 1973. – 256 p.

2 Vukov, K. Physik und chemie der Zuckerrübe als Grundlage der Verarbeitungsverfahren [Text] / K. Vukov. - Budapest: Akademiai Kiado, 1972. – 458 p.

3 Knyazev, V. A. Frosting effect of the beets on the results of its storage and processing [Text] / V. A. Knyazev // Sugar Industry, 1981. – № 10. – P. 40-42.

4 Knyazev, V. A. Reduction of losses in the industrial sugar beet storage by reducing the rate of respiration [Text] / V. A. Knyazev, N. I. Pavlyuchenko, M. P. Pelz et al // Sugar industry. – 1989. - №. 5. – P. 44.

5 Teritia, N. A. Decomposition of sucrose in sugar beet production extractors [Text] / N. A. Tveritina, A. I. Feldman, A. A. Lipiec et al // Bulletin of universities. Food technology. – 1984. - № 4. – P. 114-116.

6 Bugaenko, I. F. Analysis of sugar loss in the sugar industry and ways to reduce them [Text] / I. F. Bugaenko. – Kursk: AP "Kursk", 1994. – 128 p.

7 Zagorulko, A. Y. Research and development of control methods and ways to reduce the loss of sugar in the sugar industry [Text]: abstr. diss. ... doc. of tech. science: 05.18.05 / A. Y. Zagorulko. – Kiev: KTIPP, 1974. – 48 p.

8 Pogorelova, N. V. Selecting the optimal temperature in the extraction of sugar from sugar beet [Text] / N. V. Pogorelova, V. N. Shchegolev // Sugar Industry: Overview. – 1981. - №. 10. – P. 1-4.

9 Olejnik, I. A. Influence of some parameters on the process of extracting sugar from beet chips [Text] / I. A. Oleinik, A. V. Sarich, V. V. Munk et al // Sugar industry. – 1987. - № 9. – P. 21-23.

10 Kvasnikov, E. I. Lactic acid bacteria and their using [Text] / E. I. Kvasnikov, O. A. Nesterenko. – M.: Science. – 1975. – 390 p.

11 Bukova, V. B. Development of technology for β -fructofuranosidase *Aspergillus awamori*, czech strain [text]: abstr. diss. ... Ph.D. / V. B. Bukova. – MTIPP, 1983. – 36 p.

12 Kuzmenko, B. P. More attention to microbiological control [Text] / B. P. Kuzmenko // Sugar industry. – 1975. - № 3. – P. 38-39.