

HPLC módszer alkalmazása mézek cukorösszetételének vizsgálatára

Földháziné Ráth Gertrúd

Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem, Élelmiszerkémia és
Táplálkozástudományi Tanszék, Budapest

Érkezett: 1994. április 10.

Magyarország tradicionálisan jelentős méz exportáló ország. A piaci helyzetünk megtartása és a növekvő minőségi igények kielégítése érdekében, korszerű műszeres analitikai vizsgálatok elvégzésére is szükség van.

A jelenleg érvényben lévő magyar szabvány szerint a mézek közvetlenül redukáló cukortartalmát és összes cukortartalmát vizsgálják Fehling-Meissl-féle gravimetriás vagy Schoorl-Regenbogen, illetve döntő esetben Lane-Eynon-féle titrimetriás módszerrel. A szaharóztartalmat az össz-cukortartalom és a redukáló-cukortartalom különbségéből számolják.

A mézek szárazanyagtartalmának 95-98 %-át a cukrok képviselik (Zander és Koch 1975, Doner 1977, White 1978). Ezen belül a virágmézekben 70-80 %-ban, az édesharmatmézekben 60-70 %-ban monoszacharidok, glükóz és fruktóz, ezek mellett kisebb mennyiségben di-, tri- és tetraszacharidok találhatóak.

A mézek cukorösszetétel vizsgálatának célja összefüggés keresése a mézek botanikai eredetével, illetve az esetleges hamisítottság kimutatása.

Az elmúlt években több gázkromatográfiás vizsgálati módszert közöltek, amelyekben a cukrokat trimetil-szilil származékként, kapilláris oszlopon választották el (Hadorn és Zürcher 1974, Iverson és Bueno 1981, Brobst és Scobell 1982, Low és Sporns 1988). A gázkromatográfiás módszer hátránya, hogy a mintaelőkészítés bonyolult, időigényes, továbbá, hogy a származékképzés során cukor-anomerek keletkezhetnek.

A HPLC-technika fejlődésével egyre nő az ilyen módszerek jelentősége a cukoranalitikában is. A módszer előnye, hogy nincs szükség bonyolult mintaelőkészítésre, továbbá, hogy a mennyiségi azonosítás is pontosabban elvégezhető. A HPLC módszereknél leggyakrabban amin-oszlopot (Bogdanov és Baumann 1988, Mauch et al. 1987, Müller és Siepe 1980, Nicolov et al. 1984), emellett kation- és anioncserélő oszlopot (Brobst és Scobell 1982, Pourtallier et al. 1990, Swallow és Low 1990), továbbá α - és β -ciklodextrin oszlopot (Armstrong és Jin 1989) alkalmaznak. Eluensként leggyakrabban acetonitril-víz elegy,

detektorként refraktív index, illetve pulzáló amperometriás detektor szerepel.

A kísérletek célja egyrészt a mézek cukorösszetételének vizsgálatára alkalmas HPLC módszer adaptálása, fejlesztése volt, másrészt a fajtamézek cukorösszetétele és a botanikai eredet közötti összefüggések keresése.

Anyagok és módszerek

Mézminták

A mézminták a Lukács és Társai Laboratórium BT-től származtak, ahol a minták érzékszervi minősítését és többségüknél a pollenanalízist is elvégezték. 7 db akácméz, 8 db hársméz, 5 db gesztenyeméz és 1-1 db baltacimos és édesharmatméz minta képezte a vizsgálat tárgyát. A minták egy kivételével az 1993. évi termést reprezentálják és hozzávetőlegesen fél év múlva kerültek HPLC-s vizsgálatra.

Standard oldat készítése

Standard oldatként háromféle koncentrációjú oldatsorozat készült, amelynek középső tagja a mézek átlagos összetételét, hígabb és töményebb változata a várható szélső értékeket modellezte tízszeres hígításban. A középső tag fruktózból 4%, glükózból 3%, szacharózból 0,5%, egyéb cukrokból 0,15-0,35 % mennyiséget tartalmazott. A hígabb változat ennek felét, a töményebb 1,5-szeresét tartalmazta. A cukrokat 50 cm³ vízben oldottuk fel és mérőlombikban acetonitrillel 100 cm³-re töltöttük fel. A standard oldatok kis mintaüvegekbe töltve -20 °C-on néhány hónapig eltarthatók.

A minta előkészítése HPLC vizsgálathoz

A méz mintákból homogenizálás után 4,6-4,8 g közötti mennyiséget analitikai mérlegen lemérünk, 25 cm³ desztillált víz egy részében feloldjuk, majd a maradékkal egy 50 cm³-es mérőlombikba mosás után, acetonitrillel jelig töltjük. Az egyneműsített oldatokat Samplex-NH₂ szűrőn (Bio-Separation Technologies) szűrjük.

A HPLC mérés körülményei:

Pumpa :	Liquopump 312/1
Mintaadagoló :	20 µl-es
Oszlop :	Supelcosil NH ₂ 250 x 4,6 mm, 5 µm
Detektor :	RI Hewlett Packard 3396 A
Eluens :	acetonitril-víz 83:17 arányban
Áramlási sebesség :	1,8 cm ³ /perc
Hőmérséklet :	oszlop és RI detektor 35 °C
Integrátor:	HP 3396A

A mennyiségi mérést az integrátorral többszintű kalibráció alapján, a megfelelő csúcsok alatti területek összehasonlításával végeztük.

A minták nedvességtartalmát Zeiss-Abbé-féle refraktométeren törésmutató mérés alapján határoztuk meg az AOAC 969.38.sz. módszere alapján (Official methods...1990).

A pollentartalomra vonatkozó eredmények a Lukács-féle mézvizsgáló laboratóriumtól származnak.

Eredmények

Öt fajta mézből összesen 22 mintát vizsgáltunk. Az eredmények az 1. táblázatban találhatóak, amely mézfajtánként tartalmazza az átlagos cukorösszetételt, az egyes cukorösszetevők szárazanyagra vonatkoztatott mennyiségét, a fruktóz és glükóz arányát és ezen mérési eredmények minimális és maximális értékeit. Mivel baltacimos- és édesharmatmézből csak egy-egy minta állt rendelkezésre, ezért ezeknél a mintáknál csak az átlagértékek szerepelnek.

Az eredmények értékelése

Az MSZ 6950/87 számú, a méz minőségi követelményeit tartalmazó szabvány szerint az I. osztályú virágméz és édesharmatméz víztartalma 19%, a II. osztályúé 21% lehet. A vizsgált 22 mintából egy akácméz 19,6%-os víztartalma miatt II. osztályú minősítést kapott.

A szabvány szerint az I. és II. osztályú virágmézek legalább 65%, az édesharmatméz 60% közvetlenül redukáló cukrot tartalmazhat. Ennek a követelménynek a baltacimos méz kivételével valamennyi minta megfelelt.

Az I. osztályú virágméz legfeljebb 5%, az akácmézzel kevert virágméz és édesharmatméz legfeljebb 7% természetes eredetű nádcukrot tartalmazhat. A baltacimos méz kivételével ebből a szempontból is valamennyi minta megfelelt az I. osztályú méz követelményeinek. A baltacimos méz a II. osztályú, mézharmattal kevert virágmézeknél engedélyezett maximum 10 %-nál is magasabb, 15,03 % szacharóztartalmú volt, ami feltehetően a minta hamisítottságából következik.

Az 1. táblázat mutatja, hogy az alkalmazott módszerrel a virágmézek esetén 76,59-80,20 % közötti, édesharmatméz esetén 71,70 % összszacharóztartalmat mértünk. Ezek az értékek nagy hasonlóságot mutatnak White (1978), valamint Bogdanov és Baumann (1988) vizsgálati eredményeivel.

Mivel a minták víztartalma 14,80-19,90 % között ingadozott, ezért az 1. táblázatban a jobb összehasonlíthatóság érdekében az egyes cukrok

menyiségét a szárazanyagtartalom %-ában adtuk meg. A vizsgált 21 virágméz közül átlagosan az akácmézek fruktóztartalma a legmagasabb (49,59 %), glükóztartalma pedig a legalacsonyabb (30,44 %) értéket mutatja. A fruktóztartalmuk alapján a fajtamézek különböznek egymástól. A gesztenyemézek 45,51 %, a hársmézek 42,96 %, a baltacimos méz 36,42 %, míg az édesharmatméz 32,20 % átlagos fruktóztartalmú volt.

1. táblázat: Fajtamézek cukorösszetétele

Megnevezés:	Akác		Hárs		Gesztenye		Balta-cím	Édes-harmat
mintaszám:	7		8		5		1	1
Jellemző	át-lag	min. max.	át-lag	min. max.	át-lag	min. max.	átlag	átlag
Összes cukortartalom %	79,9	77,25 83,07	78,7	74,35 82,07	78,9	77,3 83,6	76,6	71,7
Fruktóz %*	49,6	47,65 51,17	43,0	39,96 49,95	45,5	44,11 49,55	36,4	32,2
Glükóz %*	30,4	28,70 32,85	37,0	34,06 37,61	33,1	29,31 37,61	34,3	29,5
Szacharóz %*	1,1	0,13 3,78	0,4	0,0 0,67	0,2	0,0 0,54	17,6	0,0
Turanóz %*	3,1	2,70 3,62	2,3	1,83 3,18	2,7	2,13 3,11	0,0	2,2
Maltóz %*	4,2	3,66 4,72	3,5	2,19 5,25	4,6	4,47 4,90	0,9	4,8
Izomaltóz %*	0,6	0,42 0,78	1,6	0,53 3,31	0,9	0,49 0,87	0,1	2,4
Erlóz %*	2,9	1,23 3,62	1,0	0,15 2,57	1,1	0,57 1,61	0,2	1,1
Melecitóz %*	0,0	0,0 0,0	0,04	0,0 0,08	1,0	0,0 5,08	0,0	6,2
Maltotrióz %*	0,15	0,05 0,3	0,17	0,05 0,22	0,20	0,03 0,32	0,06	0,24
Raffinóz %*	0,0	0,0 0,0	0,01	0,0 0,08	0,01	0,0 0,03	0,06	2,0
Fruktóz glükóz arány	1,6	1,56 1,68	1,2	1,09 1,44	1,4	1,24 1,63	1,1	1,1

* = cukortartalom a szárazanyag %-ában

A mézek szacharóztartalma — a baltacimos méz kivételével — az irodalomnak megfelelően alacsony. Deifel et al. (1985) tízhónapos tárolási kísérletükben a szacharóztartalom jelentős, az erlőztartalom kisebbmértékű csökkenését, míg a maltóztartalom kismértékű emelkedését figyelték meg. Az irodalom szerint az erlőztartalom a virágmézek, míg a melecitóztartalom az édesharmatmézek jellemző összetevője. A kísérleti

eredmények alapján erlőztartalom minden mintában előfordult. Az akácmézekben 3 % körüli, a gesztenye-, a hárs- és az édesharmatmézekben 1 % körüli, míg a baltacimos mézben 0,21 % erlőztartalmat mutattunk ki.

A melecitóztartalom az édesharmatmézben kiemelkedően magas (6,17 %), míg a virágmézek többségében egyáltalán nem volt, illetve csak 0-1 % tartományban mozgott. Raffinóztartalom a virágmézekben nem vagy csak nyomokban található, míg az édesharmatmézben 2,0 %-ban fordult elő.

A fruktóz-glükóz arányból a mézek kristályosodási hajlamára lehet következtetni. A legmagasabb átlagértéket (1,63-at) a kristályosodásra legkevésbé hajlamos akácmézek mutatják. A gesztenyemézek átlagos 1,37-es fruktóz-glükóz aránya is a kevésbé kristályosodó mézekre jellemző. A többi mézminták 1,06-1,16 közötti fruktóz-glükóz aránnyal a kristályosodásra hajlamos mézeket képviselik.

Az akácmézekben a *Robinia* pollen tartalmat 31-44 % és a *Cruciferae* pollen tartalmat 1-10 % mutattunk ki. Nedvességtartalmuk 15,3-19,6 % között változott. Az akácmézekben melecitóz és raffinóz nem volt kimutatható. A minták közötti legnagyobb eltérés a szacharóz- és az erlőztartalomban figyelhető meg.

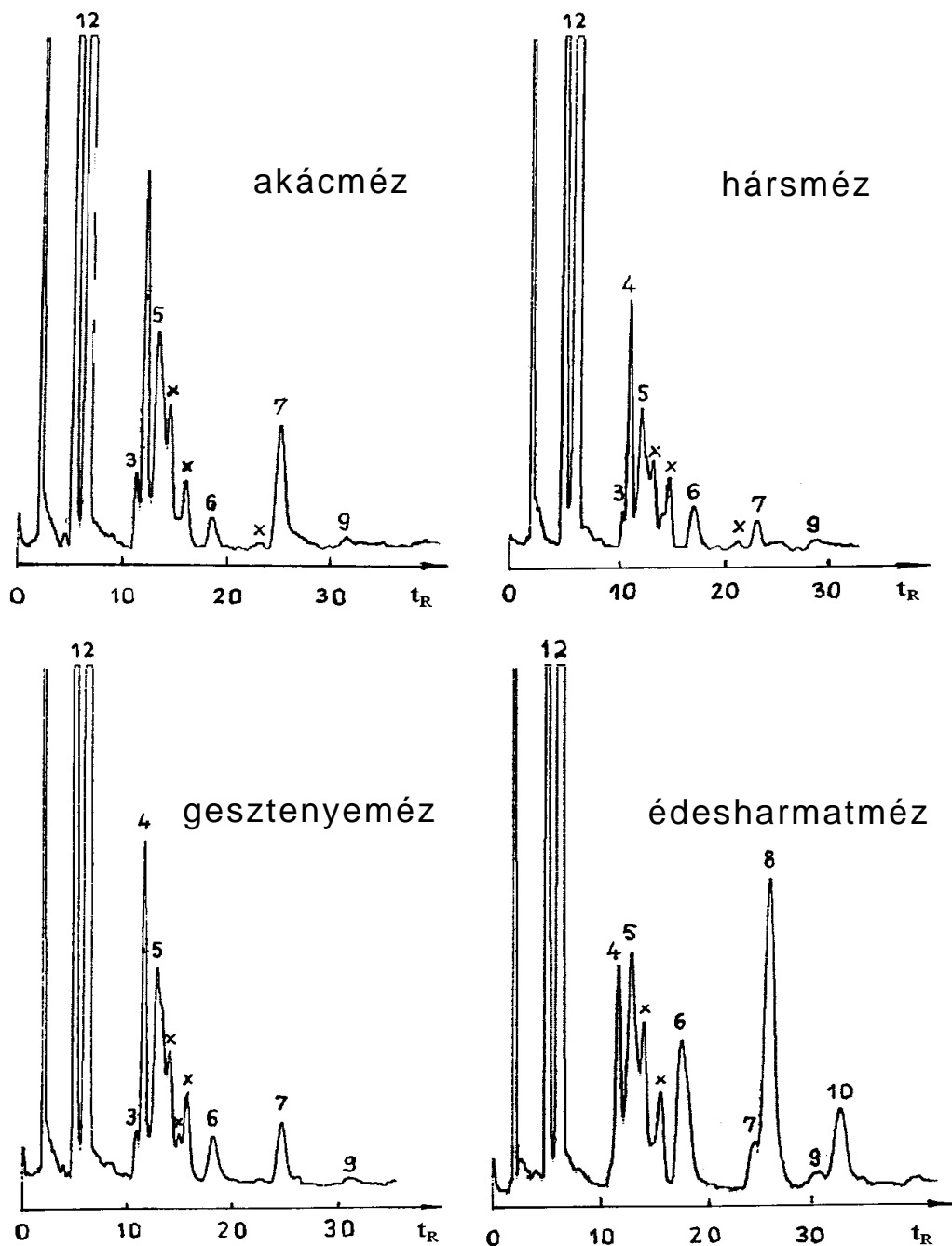
A hársmézekben a hárspollen-tartalom 13-86 %, a víztartalom 15,3-19,6 % közt változott. A legmagasabb hárspollen tartalmú minta - a fruktóz- , a glükóz- és az erlőztartalom alapján - az akácmézekhez hasonló összetételt mutat. Az 1992-es eredetű mintában a szacharóztartalom teljesen lebomlott, a maltóztartalom magasabb, az erlőztartalom alacsonyabb a többi mintához viszonyítva. Melecitóz és raffinóz nem, vagy csak nagyon kis mennyiségben volt kimutatható.

A gesztenyemézek gesztenyepollen-tartalma 56-96 % között, víztartalma 15,2-17,8 % között változott. A vizsgálatkor két minta a cukorösszetétel, valamint a fruktóz-glükóz arány alapján az akácmézekhez hasonlított. Egy minta a rendkívül sok gesztenyepollen jelenlét ellenére a glükóz-, a fruktóz- és a melecitóztartalma alapján az édesharmatmézre emlékeztetett.

Az 1. ábra egy-egy akác-, hárs-, gesztenye- és édesharmatméz kromatogramját mutatja. A kromatogramokon is látható, hogy a virágmézekben a mono- és diszacharidok dominálnak, emellett az erlőz, mint triszacharid jellemző, míg az édesharmatmézben a fruktóz és glükóz mellett a melecitóz és raffinóz csúcsok dominálnak. A virágmézek kromatogramján 2-3 csúcsot standard hiányában nem tudtunk azonosítani. A retenciós idők alapján ezek diszacharidok.

Az eredmények alapján látható, hogy a HPLC módszer segítségével a mézekből 12-13 cukorkomponens határozható meg. A módszer

rutinellenőrzésre is alkalmas. A minta előkészítése egyszerűen és gyorsan elvégezhető. Egy minta analízise a mintaelőkészítést és a párhuzamos mérést figyelembe véve 1,5-2,0 órát igényel.



1.ábra: Az akác-, hárs-, gesztenye- és édesharmatméz kromatogramja. A komponensek: (1) fruktóz, (2) glükóz, (3) szacharóz, (4) turanóz, (5) maltóz, (6) izomaltóz, (7) erlóz, (8) melecitóz, (9) maltotrióz, (10) raffinóz, (x) nem azonosított csúcs

A kromatogram értékelésével a szabvány által előírt és jelenleg alkalmazott vizsgálatokhoz képest (redukálócukortartalom, összes cukortartalom, illetve fruktóz-glükóz arány mérése), egyetlen vizsgálattal, rövidebb idő alatt, több információt kapunk a mintáról.

Megállapítható továbbá, hogy a cukorösszetétel önmagában nem jellemző egy-egy fajtamézeire, bár a virágmézek és az édesharmatmézek elkülönítésére alkalmas.

A mézek — fruktóztartalmuk átlagát tekintve — bizonyos sávokba sorolhatók, de egy-egy fajta mintái között viszonylag nagy eltérések figyelhetők meg.

Az érzékszervi minősítés és a pollenanalízis alapján akácméznek minősített minták a fruktóz-glükóz arányukat tekintve kiemelkednek valamennyi vizsgált minta közül.

Irodalom

- ARMSTRONG, D. W., JIN, H. L. (1989): Evaluation of the liquid chromatographic separation of monosaccharides, disaccharides, trisaccharides, tetrasaccharides, deoxysaccharides and sugar alcohols with stable cyclodextrin bonded phase columns. *J. Chromatogr.*, 462, 219-232.
- BINDER, H. (1980): Separation of monosaccharides by high-performance liquid chromatography: comparison of ultraviolet and refractive index detection. *J. Chromatogr.*, 189, 421-424.
- BOGDANOV, S., BAUMANN, E. (1988): Bestimmung von Honigzuckern mit HPLC. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.*, 79, 198-206.
- BROBST, K. M., SCOBELL, H. D. (1982): Modern chromatographic methods for the analysis of carbohydrate mixtures. *Starch*. 34, 117-121.
- DEIFEL, A., GIERSCHNER, K., VORWOHL, G. (1985): Saccharose im Honig. *Deut. Lebensm. Rundschau*. 81, 356-362.
- DONER, L. W. (1977): The sugars of honey - a review. *J. Sci. Food Agric.*, 28, 443-456.
- HADORN, H., ZÜRCHER, K. (1974): Gaschromatographische Bestimmung der Zuckerarten in Honig. *Lebensm. Hyg.*, 65, 198-209.
- IVERSON, J. L., BUENO, M. P. (1981): Evaluation of high pressure liquid chromatography and gas-liquid chromatography for quantitative determination of sugars in foods. *J. AOAC*. 64, 139-143.
- LIPP, J., ZIEGLER, H., CONRADY, E. (1988): Detection of high fructose and other syrups in honey using high-pressure liquid chromatography. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 187, 334-338.
- LOW, N. H., SPORNS, P. (1988): Analysis and quantitation of minor di- and trisaccharides in honey, using capillary gaschromatography. *J. of Food Sci.*, 53, 558-561.
- MAUCH, W., GENNRICH, A., MOLNÁR, I. (1987): Saccharidtrennung mittels Gradientenelution. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 185, 383-385.
- MÜLLER, H., SIEPE, V. (1980): Quantitative Bestimmung einiger Mono und Oligosaccharide in Lebensmitteln mit Hilfe der HPLC. *Deut. Lebensm. Rundschau*. 76, 156-161.
- NIKOLOV, Z. L., JAKOVLJEVIC, J. B., BOSKOV, Z. M. (1984): High performance liquid chromatographic separation of oligosaccharides using amine modified silica columns. *Starch*. 36, 97-100.
- OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS (1990): 15-th Ed., AOAC, Arlington, Section 969.38
- POURTALLIER, J., ROGNONE, C., DAVICO, R. (1990): Une nouvelle technique d'analyse des sucres des miels par chromatographie liquide a haute performance. *L'abeille de France*. 754, 448-451.
- SWALLOW, K. W., LOW, N. H. (1990): Analysis and quantitation of the carbohydrates in honey using HPLC. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 1828-1832.

HPLC módszer alkalmazása mézek cukorösszetételének vizsgálatára

Földháziné Ráth Gertrúd

Szerző HPLC vizsgálati módszert alkalmazott mézek cukorösszetételének vizsgálatára. A vizsgált mintákból 12-13 cukorkomponens elkülönítésére került sor, bár standard hiányában csak 10 komponens azonosítása volt elvégezhető. Összehasonlítva a módszert a szabványban előírt és jelenleg alkalmazott méz cukorvizsgálati módszerekkel (összes cukortartalom, redukálócukortartalom, szacharóztartalom meghatározás), egy méréssel, rövidebb idő alatt, kvantitatív eredményeket kapunk a minta cukorösszetételéről. Megállapítható, hogy magas fruktóztartalmuk és fruktóz-glükóz arányuk alapján az akácmézek kiemelkednek a többi virágméz közül. A módszer alkalmas a virágmézek és az édesharmatmézek elkülönítésére is.

High performance liquid chromatographic separation of the carbohydrates in honey

Földházi, G.

An HPLC method was used to determine the sugar composition of honey. In the investigated samples 12-13 sugars could be separated, only 10 of them could be identified in the lack of certain standards. Compared with the Hungarian standard methods used in honey analysis, the described procedure allows a rapid, sensitive, and quantitative detection of sugars in one step. Acacia honeys stand out with their highest fructose content and fructoseglucose ratio. Floral honeys can be distinguished from honeydew honey.

Anwendung der HPLC-Methode zur Untersuchung der Zuckerzusammensetzung von Honigtypen

Földházi, G.

Es wird eine HPLC-Methode zur Bestimmung von Honigzuckern beschrieben. In den Proben konnten 12-13 Zucker getrennt und 10 davon bestimmt werden, da die entsprechenden Standards nicht zur Verfügung standen. Im Vergleich zur standardizierten Methoden für die Bestimmung des Gehalts an Gesamtzuckern und an reduzierenden Zuckern sowie an Saccharose, ermöglicht die hier vorgestellte Methode die quantitative Erfassung von Honigzuckern in einem Arbeitsgang und bei kurzer Analysenzeit. Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigen das die Fructosegehalte und Fructose-Glucose-Verhältnisse in Akazienhonig-Proben am höchsten liegen. Die Methode ist anwendbar zur Unterscheidung von Blütenhonig und Honigtauhonig.