

Využití Ramanovi spektroskopie pro průkaz květových a medovicových medů

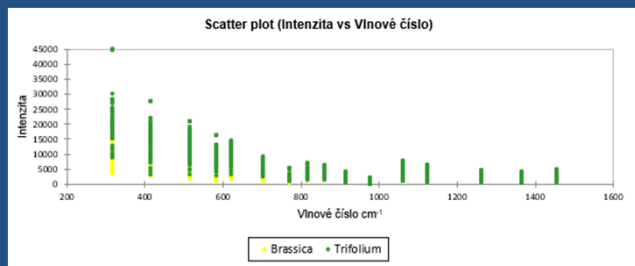
Pleva B., Pospiech M., Pečová M., Čaloudová J., Tremlová B

Abstrakt

Jednoduché květové medy vznikají zahušťováním nektaru rostlin a jsou pro spotřebitele velmi oblíbeny. Hlavní složkou medů jsou sacharidy, které tvoří až 95 % sušiny. Převážná většina sacharidů jsou monosacharidy, a to zejména glukóza a fruktóza. V medu se kromě sacharidů vyskytují také kyseliny, aminokyseliny, proteiny a další látky, které jsou zde zastoupeny z důvodu obsahu pylů, ale také i ze slinných žláz včel. Jejich druhová identifikace však není jednoduchá. V dnešní době se využívají metody stanovení autenticity na základě DNA, případně metody zaměřené na mikroskopii pylových zrn, tyto metody se porovnávají s pylovou databází.

Úvod

K průkazu jednoduchého medu lze použít Ramanovu spektroskopii. Tato metoda slouží především k detekci falšování a ověřování autenticity medů. Ramanova spektroskopie představuje rychlou nedestruktivní metodu pro jinak používané fyzikálně chemické analýzy a melissopalynologickou analýzu. Podstata této metody je založena na principu výměny energie monochromatického světla při interakci s elektronovým paprskem molekul. Ramanův děj probíhá tehdy, když dojde k neúměrnému rozptýlení dopadajícího světla, které způsobuje vibrační posun vlnového čísla.



Graf 1: Porovnání intenzity a vlnového čísla u medů řepkových a jetelových

Výsledky

Mezi hodnocenými vzorky medů byl potvrzen rozdíl v záznamu Ramanova spektra. Statisticky významné rozdíly mezi řepkovými a jetelovými medy nebyly potvrzeny v oblastech spekter 1456 cm, jež jsou typické vibrace C-H vazeb, kde dochází ke změně valenčního úhlu lipidů a celulózy, v oblasti spektra 1061 cm⁻¹, jež je specifická oblast pro C-O a C-C vazby a jejich změny délky spektra, a u spektra 915 cm⁻¹, tato oblast je dána C-H a C-O-H vazbami, kde dochází ke změně valenčního úhlu, což je specifická oblast pro glukózu. Statisticky významné rozdíly byly potvrzeny v oblasti vlnových čísel 1365, 1263, 1124, 977, 862, 817, 772, 703, 620, 584, 515, 416 a 317 cm⁻¹. Specifické píky představují obsah jednotlivých sacharidů. Pro glukózu jsou specifické píky v oblastech spektra 416, 515, 584, 620, 703, 772, 817 a 862 cm⁻¹. Specifické píky fruktózy vznikají v oblasti spekter 416, 515, 620 a 977 cm⁻¹. Maltóza má specifické píky v oblasti spektra 977, 1124, 1263 1365 cm⁻¹. U sacharózy vznikají specifické píky v oblasti spektra 1124, 1263 a 1365 cm⁻¹. Dle statistického testu ANOVA jsou medy řepkové od medů jetelových velmi dobře rozpoznatelné, a to na hladině významnosti 95 %. Rozdíl intenzity vlnového čísla je znázorněn v grafu číslo 1. Metoda Ramanovy spektroskopie je vhodnou metodou k ověřování autenticity medu, a to na základě obsahu specifických sacharidů.

Závěr

Výsledky této práce ukazují, že metoda Ramanovy spektroskopie je vhodná k odlišení původu medů řepkových od medů s převážujícím zastoupením pylu jetele. Tento rozdíl je dán specifickým složením sacharidů u jednotlivých druhů medů. Specifické píky vhodné pro odlišení analyzovaných medů byly zjištěny ve vlnových číslech 1365, 1263, 1124, 977, 862, 817, 772, 703, 620, 584, 515, 416 a 317 cm⁻¹.

Materiál a metodika

Pro analýzu byly použity medy od hobby včelařů z celé české republiky. Analyzováno bylo 63 medů, z toho bylo 40 řepkových a 23 jetelových medů. U medů bylo potřeba standardizovat refraktometrickou sušinu na 65° ± 0,5° brixů. Standardizace se prováděla na základě stanovení množství vody v jednotlivých vzorcích. Množství vody v medu se zjišťovalo pomocí digitálního refraktometru. Dle naměřených hodnot obsahu vody se přidalo adekvátní množství destilované vody ke vzorku medu, tak aby bylo dosaženo požadované refrakce. Navážky vzorku byla 10 g a množství destilované vody dle přepočtu z původního obsahu vody v medu. Standardizace vzorku probíhala v ultrazvukové lázni za občasného míchání. Po homogenizaci se vzorky temperovaly na pokojovou teplotu a následně se ověřila výsledná refrakce medu. Všechny vzorky byly připraveny v duplikátu, aby byla zkontrolována správnost přípravy vzorků. Standardizované vzorky byly změřeny pomocí Ramanova spektroskopu v rozsahu 300 – 2000 vlnového čísla cm⁻¹. Pro změření jednotlivých složek v medu byl použit laser o vlnové délce 785 nm s výkonem 91 mW. Jednotlivé vzorky byly změřeny 4x v duplikátu k vyloučení chyby měření. Výsledná data byla vyhodnocena pomocí ANOVA vyhodnocení a deskriptivní analýzy. Každé spektrum bylo před dalším zpracováním vyhlazeno klouzavým průměrem. Na takto připravených spektrech bylo identifikováno 16 specifických oblastí.

Vlnové číslo (cm ⁻¹)	Vibrace	Řepkový med	Jetelový med
1456	C-H ^d lipidů a celulózy	2939,66 ± 886,25 ^a	2773,06 ± 1104,2 ^a
1365	C-H ^d lipidů a celulózy	2247,39 ± 839,7 ^a	1454,94 ± 925,38 ^b
1263	N-H ^d , C-N ^c amidů III	2844,87 ± 872,85 ^a	2412,2 ± 1088,06 ^b
1124	C-O, C-C ^c	4265,65 ± 1323,76 ^a	3805,95 ± 1907,8 ^b
1061	C-O, C-C ^c	5066,11 ± 1508,05 ^a	4689,56 ± 2200,3 ^a
977	C-O, C-C ^c	816,64 ± 296,52 ^a	692,19 ± 462,31 ^b
915	C-H, C-O-H ^d	2243,71 ± 677,71 ^a	2206,04 ± 852,75 ^a
862	C-H ^d	3223,01 ± 885,66 ^a	3577,86 ± 1055,81 ^b
817	C-H ^c	3325,76 ± 936,59 ^a	3759,86 ± 1162,88 ^b
772	C-H ^d	1210,66 ± 696,82 ^a	1965,97 ± 1162,66 ^b
703	C-O, C-C-O, O-C-O ^c	2657,26 ± 1202,45 ^a	4565,64 ± 1523,47 ^b
620	cyklická ^c	6266,6 ± 2034,57 ^a	9470,8 ± 2547,41 ^b
584	skeletální ^c	5138,76 ± 1966,48 ^a	9148,56 ± 2832,41 ^b
515	N-H ^c proteinů	8686,56 ± 2799,93 ^a	13342,61 ± 4197,34 ^b
416	C-H ^c lipidů a celulózy	9224,75 ± 3117,6 ^a	15268,79 ± 5283,97 ^b
317	vibrace karbohydrátů a proteinů	9156,1 ± 4032,11 ^a	21286,17 ± 7464,78 ^b

Tabulka 1: Srovnání vibračních spekter řepkových a jetelových medů

