

Metody detekcie cizorodých enzýmů v medu za použití multidimenzionálních přístupů

¹Vorlová L., ¹Tkáč M., ²Procházková M.

¹Ústav hygieny a technologie mléka, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42, Brno

²Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Hudcova 296/70, 621 00 Brno

ABSTRAKT

Táto práca sa zaoberá použitím kombinácie metód na stanovenie aktivity diastázy (α -amylázy) a techniky MALDI-TOF MS na detekciu cudzej α -amylázy v mede. Ďalej bolo sledované použitie techniky MALDI-TOF MS pre detekciu β -amylázy a γ -amylázy. Analyzované boli vzorky medov odobrané priamo od českých a slovenských včelárov, vzorky medov z tržnej siete pôvodom z EÚ a mimo EÚ, vzorky sacharidových sirupov (ryžový, repný, pšeničný a sladový výťažok) a z tiež zmesi medu a sacharidových sirupov.

Aktivita diastázy bola stanovená metódami Phadebas a Amylazyme. Hodnoty aktivity diastázy stanovené metódou Phadebas boli nižšie v porovnaní s metódou Amylazyme. U analyzovaných vzoriek medov priamo od českých a slovenských včelárov aj medov z tržnej siete sme nedetegovali prítomnosť medu cudzej α -amylázy. Spomedzi analyzovaných sacharidových sirupov vzorka sladového výťažku ako jediná vykazovala aktivitu α -amylázy, ktorá bola 1,8-násobne vyššia pri stanovení metódou Phadebas v porovnaní s metódou Amylazyme. Vyššiu aktivitu diastázy metódou Phadebas oproti metóde Amylazyme sme stanovili aj u zmesi s 30% a 60% náhradou medu sladovým výťažkom (1,6-násobne vyššiu aktivitu) a pšeničným sirupom (1,8-násobne vyššia aktivita). Vyššie stanovené aktivity diastázy metódou Phadebas v porovnaní s aktivitou stanovenou metódou Amylazyme, poukazujú na odlišnú reakciu substrátu na α -amylázu s inými vlastnosťami ako je diastáza v mede.

Vo všetkých vzorkách medov (medy od českých včelárov, medy od slovenských včelárov, medy z tržnej siete) bola metódou MALDI-TOF MS detegovaná iba α -amyláza. Prítomnosť iných enzýmov teda β -amylázy a γ -amylázy nebola metódou detegovaná.

Vzorky medov od včelárov vykazovali vo väčšine prípadov vyšší obsah α -amylázy ako vzorky medov z tržnej siete. Vo vzorkách sacharidových sirupov nebola α -amyláza metódou MALDI-TOF MS za daných podmienok detegovaná.

Z výsledkov je zrejmé, že vzorky medov z tržnej siete sa detegovaným obsahom α -amylázy pohybovali v rozmedzí hodnôt, ktoré boli detegované pre vzorku zmesi medu a sacharidových sirupov v rozmedzí obsahu sirupu 30% - 60%. Tento fakt naznačuje hypotézu, že falšovanie medov prídavkom sacharidových sirupov výrazne znižuje obsah prirodzenej α -amylázy v mede.

Methods for detection of foreign enzymes in honey using multidimensional approaches

¹Vorlová L., ¹Tkáč M., ²Procházková M.

¹Department of Milk Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Palackého třída 1946/1, 612 42 Brno

²Veterinary Research Institute, Hudcova 296/70, 621 00 Brno

ABSTRACT

This work presents combination of methods for determining the diastase (α -amylase) activity and the MALDI-TOF MS technique for the detection of foreign α -amylase in honey. Furthermore, use of the MALDI-TOF MS technique for the detection of β -amylase and γ -amylase was observed. Honey samples collected directly from Czech and Slovak beekeepers, market samples of honey from EU and non-EU countries, samples of carbohydrate syrups (rice, beet, wheat and malt extract) and a mixture of honey and carbohydrate syrups were analysed.

Diastase activity was determined by Phadebas and Amylazyme methods. Diastase activities determined by the Phadebas method were lower compared to the Amylazyme method. The presence of foreign α -amylase was not detected in the analyzed samples of honeys obtained directly from Czech and Slovak beekeepers and honeys from the market. Among the carbohydrate syrups analysed, the malt extract sample was the only one to show α -amylase activity, which was 1.8-fold higher in the Phadebas assay compared to the Amylazyme method. Compared to the Amylazyme method, higher diastase activity was also determined by the Phadebas method in mixtures with 30% and 60% honey substitution with malt extract (1.6-fold higher activity) and wheat syrup (1.8-fold higher activity). The higher diastase activities determined by the Phadebas method compared to those determined by the Amylazyme method indicate a different reaction of the substrate to α -amylase with properties other than diastase in honey.

In all samples of honeys (honeys from Czech beekeepers, honeys from Slovak beekeepers and honeys from the market) only α -amylase was detected by the MALDI-TOF MS method. The presence of other enzymes like β -amylase and γ -amylase was not detected.

Honey samples from beekeepers showed in most cases a higher content of α -amylase than honey samples from the market network. In case of all carbohydrate syrups samples α -amylase was not detected by MALDI-TOF MS under given conditions.

The obtained results show that the detected contents of α -amylase in samples of honeys from the market network were in the range of values that were detected for the sample of mixture of honey and carbohydrate syrups in the range of syrup content 30% - 60%. This suggests the hypothesis that adulteration of honey by the addition of carbohydrate syrups significantly reduces the content of the natural α -amylase in honey.