

Dynamika tvorby hydroxymethylfurfuralu v medu

Dynamic of hydroxymethylfurfural formation in honey

Kalábová, K., Vorlová, L., Borkovcová I.¹

Ústav hygieny a technologie mléka, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

¹Centrum hygieny potravinových řetězců Brno, Státní zdravotní ústav Praha

Abstract

Hydroxymethylfurfural (HMF; 5-hydroxymethyl-2-furankarbaldehyd) ranks among the substances with mutagenic activity. However, in light of health hazard, the opinions on its possible cytotoxic, genotoxic and carcinogenic effects are not unified. However, it is obvious that being able to enter other reactions, this highly reactive compound can make the nutritional value of honey lower by the degradation of its unstable components, or possibly affect its colour if present in higher concentrations. The HMF content in fresh honey is very low, almost reaching zero. However, it grows up during the heating or storage processes. Considering all the facts mentioned above, the content of HMF makes an important parameter in the evaluation of honey quality. In the Czech legislature the Direction no. 76/2003 of the Code limits the content of HMF in honey to 40 mg.kg⁻¹. In the international legislature this limit value is defined by the European Honey Directive (2002) and by the Codex Alimentarius (2001).

In this study the HMF content in honey using HPLC method was determined. The samples of honeys were obtained directly from Czech beekeepers from the harvest of 2003. The concentration of HMF we determined in fresh samples and then after storage for 8 months. The samples were stored by three ways: at room temperature in the light and in the dark and in the icebox. The HMF concentration was determined in connection with the assessment of antibacterial and antioxidant activity and other parameters in order to eliminate of damaged samples. The HMF content after storage increased not only depending on start value but also depending on storage temperature. The concentration of HMF in samples stored in the icebox was significantly lower than content of HMF in samples stored at room temperature. The limit of 40 mg.kg⁻¹ determined by the Czech legislation for the HMF content in honey wasn't exceeded.

Úvod

Hydroxymethylfurfural (HMF; 5-hydroxymethyl-2-furankarbaldehyd) se řadí mezi látky s mutagenní aktivitou, i když z hlediska zdravotního rizika pro lidský organismus názory na jeho možné cytotoxické, genotoxické a karcinogenní působení doposud nejsou jednotné. Jisté však je, že tato velmi reaktivní sloučenina může vstupovat do dalších reakcí a tím snižovat nutriční hodnotu medu degradací jeho labilních složek, případně ve vyšších koncentracích ovlivňovat barvu medu.

Obsah HMF v čerstvém medu je velmi nízký až nulový, k jeho nárůstu dochází při zahřívání nebo při skladování. Vzhledem k výše uvedeným skutečnostem je množství HMF významným parametrem při hodnocení jakosti medu (Gangolli, 1999; Kubiš a Ingr, 1998).

Obsah HMF v medu je v české legislativě limitován Vyhláškou č. 76/2003 Sb. hodnotou $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Tato limitní hodnota je pro HMF v medu stanovena i v mezinárodní legislativě představované směrnicemi European Honey Directive (2002) a Codex Alimentarius (2001).

Materiál a metodika

Materiál

- ⇒ Bylo vyšetřeno 37 vzorků medů, které byly získány přímo od včelařů z České republiky ze snůšky 2003.
- ⇒ HMF byl stanoven v čerstvých medech do 4 měsíců od vytočení.
- ⇒ U 16 z těchto vzorků byl HMF stanoven znovu po 8 měsících skladování, které bylo trojího druhu: při pokojové teplotě ($21 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$) na světle a ve tmě a v chladničce ($3 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$).

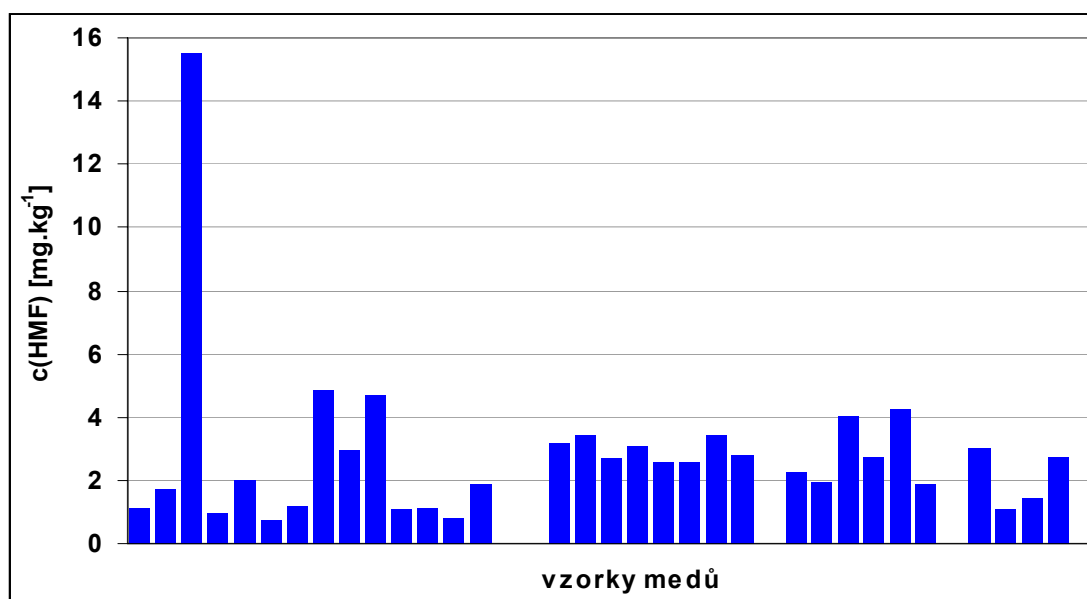
Metodika

- ⇒ *Příprava vzorků medů* (dle Bogdanov et al., 1997):
 - 5 g medu rozpuštěno v ultračisté vodě a kvantitativně převedeno do 25 ml odměrné baňky
 - po doplnění roztok přefiltrován přes membránový filtr pro HPLC ($0,45 \text{ }\mu\text{m}$)
- ⇒ *HPLC stanovení* (dle Bogdanov et al., 1997):
 - kapalinový chromatograf Alliance 2695 firmy Waters (USA) s PDA detektorem 2996
 - kolona Nova-Pak C_{18} $3,9 \times 150 \text{ mm}$, $4 \text{ }\mu\text{m}$
 - mobilní fáze – voda:methanol / 90:10, průtok $1,0 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$, nástřik $20 \text{ }\mu\text{l}$, $T_k = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, izokratické uspořádání
 - detekce v UV oblasti při vlnové délce 285 nm
 - měření vyhodnocováno metodou vnějšího standardu s využitím Empower PDA softwaru (Waters, USA)
 - mez detekce použité metody je $0,035 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
- ⇒ každý vzorek byl analyzován ve dvou paralelních stanoveních.

Výsledky a diskuse

Obsah HMF v čerstvých medech

Koncentrace HMF v čerstvých vzorcích se pohybovaly v rozmezí $0 - 4,88 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, pouze jeden ze vzorků dosáhl hodnoty $15,51 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, jak je zřejmé z grafu 1. Tento vyšší obsah HMF v jednom vzorku byl zřejmě způsoben zahřátím tohoto medu na vyšší teplotu za účelem ztekucení.



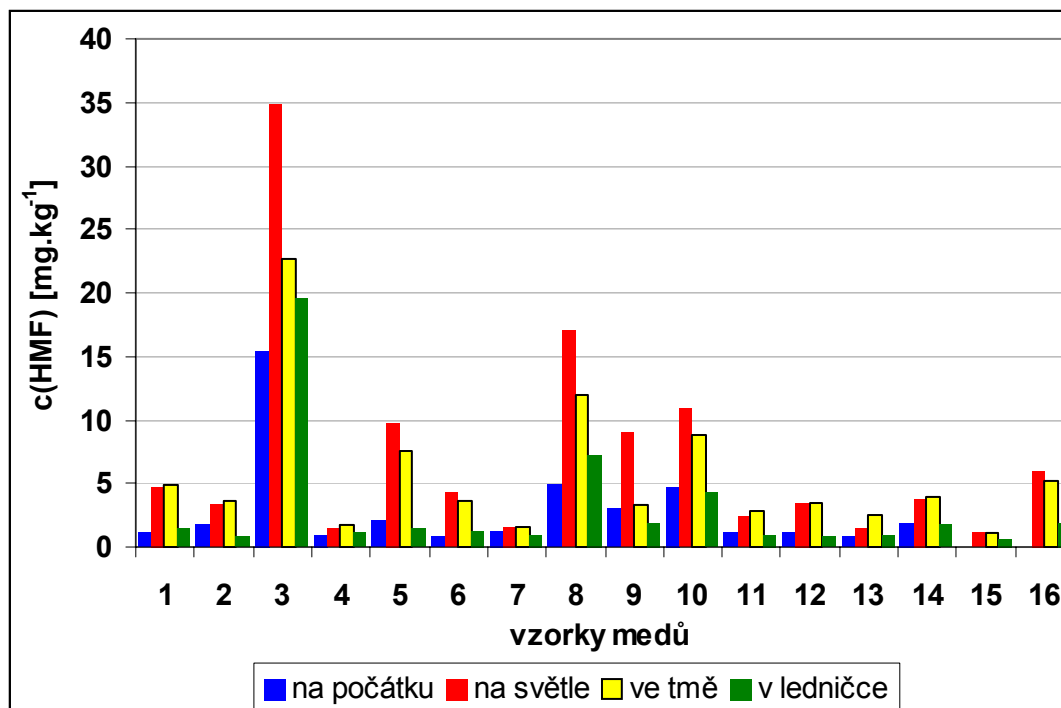
Graf 1. Obsah HMF v 37 čerstvých vzorcích medů.

Obsah HMF v medech po skladování

V grafu 2 jsou znázorněny koncentrace HMF v 16 vzorcích medů, a to před skladováním ($0 - 15,51 \text{ mg.kg}^{-1}$) a po 8 měsících skladování při pokojové teplotě na světle ($1,04 - 34,73 \text{ mg.kg}^{-1}$) a ve tmě ($1,08 - 22,73 \text{ mg.kg}^{-1}$) a v chladničce ($0,69 - 19,56 \text{ mg.kg}^{-1}$). Jak je zřejmé z tabulky 1, obsah HMF se statisticky významně ($p < 0,01$) zvýšil během skladování při pokojové teplotě na světle i ve tmě, statisticky nevýznamný byl nárůst koncentrace HMF po skladování vzorků v chladničce. Statisticky významně ($p < 0,01$) se mezi sebou liší obsah HMF ve vzorcích skladovaných v chladničce a při pokojové teplotě na světle a také v chladničce a při pokojové teplotě ve tmě. Rozdíl v koncentracích HMF vzorků skladovaných při pokojové teplotě na světle a ve tmě není statisticky významný.

Tabulka 1. Statistické zhodnocení obsahu HMF ve vzorcích medů před a po skladování

c(HMF)	na počátku	na světle	ve tmě
na světle	$p < 0,01$	x	x
ve tmě	$p < 0,01$	stat.nevýzn.	x
v ledničce	stat.nevýzn.	$p < 0,01$	$p < 0,01$



Graf 2. Obsah HMF v 16 vzorcích medů před a po skladování.

HMF a legislativa

Vzhledem k tomu, že obsah HMF byl v analyzovaných vzorcích měřen ve spojitosti se stanovením antibakteriální a antioxidační aktivity a dalších parametrů medu k vyloučení porušených vzorků, porovnali jsme námi naměřené hodnoty s limitní hodnotou HMF v medu 40 mg.kg^{-1} stanovenou ve Vyhlášce č. 76/2003 Sb. Zjistili jsme, že žádný ze vzorků před ani po skladování tento limit nepřesáhnul. Tento výsledek koresponduje s výsledky naší dřívější studie (Kalábová et al., 2003), kde bylo zjištěno, že není-li med porušen nevhodným zacházením, nedosáhne v době stanovené minimální trvanlivosti (3 let) limitní hodnoty HMF. Jeden z našich vzorků se po skladování na světle ($34,73 \text{ mg.kg}^{-1}$) tomuto limitu 40 mg.kg^{-1} dost blíží, takže by po dalším skladování už zřejmě neobstál, ale jak již bylo uvedeno výše, tento vzorek byl zřejmě porušen zahřátím na příliš vysokou teplotu vzhledem k jeho vysoké počáteční koncentraci HMF.

HMF a zdravotní riziko?

I když je HMF považován za potenciální karcinogen, bylo zjištěno, že při obvyklé denní dávce kolem 1 mg.kg^{-1} tělesné hmotnosti nehrozí pro člověka nebezpečí. Škodlivý efekt nebyl pozorován až do dávky 80 mg.kg^{-1} tělesné hmotnosti (Potravinářské aktuality, 0/2001). Z této informace je zřejmé, že při běžných hodnotách HMF v medu se není třeba obávat zdravotního rizika. Limitní hodnota pro obsah HMF (40 mg.kg^{-1}) je v legislativě týkající se medu zakotvena z jiného důvodu - jako indikátor nežádoucího tepelného ošetření a jiných způsobů porušení medu, protože jakékoliv tepelné ošetření není žádoucí, ba naopak každé zahřátí snižuje nutriční hodnotu medu.

Literatura

- BOGDANOV, S., MARTIN, P., LÜLLMANN, C. (1997): Harmonised methods of the european honey commission. *Apidologie*, Extra issue, p. 1-59.
- CODEX ALIMENTARIUS (2001): Revised codex standard for honey. *Codex stan.* 12-1981, Rev.1 (1987), Rev.2 (2001).
- EUROPEAN HONEY DIRECTIVE (2002): Council Directive of 12th December 2001 relating to honey (2001/110/EC). *Off J Eur Communities*, L 10, p. 47-52.
- GANGOLLI S. (ed.) (1999): *The dictionary of substances and their effects*. Cambridge, The royal society of chemistry.
- KALÁBOVÁ, K., VORLOVÁ, L., BORKOVCOVÁ, I., SMUTNÁ, M., VEČEREK, V. (2003): Hydroxymethylfurfural in Czech honeys. *Czech J Anim Sci*, Vol. 48, p. 551-557.
- KUBIŠ I., INGR I. (1998): Effects inducing changes in hydroxymethylfurfural content in honey. *Czech J Anim Sci*, Vol. 43, p. 379-383.
- POTRAVINÁŘSKÉ AKTUALITY – výživa, trendy v potravinářství, legislativa. 0/2001, p. 11, vydavatel Ústav zemědělských a potravinářských informací Praha.
- VYHLÁŠKA č. 76/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony. *Sbírka zákonů*, částka 32, 2470 – 2487.

Práce byla financována z prostředků Výzkumného záměru MŠMT č. 162700005 a grantového projektu FRVŠ č. 1480.