

Εργαστήριο Ανάλυσης και Τεχνολογίας Τροφίμων

ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΜΕΛΙΟΥ

Β. Κοντογιάννη
Επικ. Καθ.



ΜΕΛΙ

- Το μέλι είναι γλυκό και παχύρευστο προϊόν που παρασκευάζεται από τις μέλισσες, με πρώτες ύλες νέκταρ ανθέων ή μελιτώματα.
- Νέκταρ είναι ζαχαρούχος χυμός που εκκρίνεται από άνθη, και μελίτωμα ζαχαρούχος χυμός που δημιουργείται πάνω σε φυτά.
- Ανθόμελα: μέλια πορτοκαλιάς, καστανιάς, ερείκης, κ. α., (θυμαρίσιο)
- Μέλια μελιτωμάτων (δασόμελα): πεύκου, έλατου, βελανιδιάς.

Μελίτωμα πεύκου



Μελίτωμα ελάτου



ΣΥΣΤΑΣΗ ΜΕΛΙΟΥ

- Το μέλι είναι συμπυκνωμένο υδατικό διάλυμα ιμβερτοζάχαρου, που περιέχει ένα πολύπλοκο μίγμα άλλων υδατανθράκων, ενζύμων, αμινοξέων, οργανικών οξέων, ανόργανων, ενώσεων αρώματος, χρωστικών, κηρών, κόκκων γύρης και άλλων.
- Η φρουκτόζη (~ 38%) και η γλυκόζη (~ 31%) είναι τα κύρια ζάχαρα του μελιού.
- Το άθροισμα τους πρέπει να είναι μεγαλύτερο από 60% για μέλια ανθέων ή 45% για μέλια μελιτώματος ή μείγμα μελιτώματος με άνθη.
- Μαλτόζη, ζαχαρόζη, πολυσακχαρίτες

ΣΥΣΤΑΣΗ ΜΕΛΙΟΥ

- Στο μέλι βρίσκονται ορισμένες πρωτεΐνες, ελεύθερα αμινοξέα (κύριο προλίνη).
- Ένζυμα μελιού: οξειδάση της γλυκόζης, ιμβερτάση & διαστάση.
- Ανόργανα συστατικά: K, Na, Mg, Fe, Cu, Mn, Cl, P, S.
- Ενώσεις αρώματος: > 300.
- Υδροξυμεθυλοφουρφουράλη (ΥΜΦ): προϊόν (αφυδάτωσης) της φρουκτόζης κατά τη θέρμανση και την παλαίωση.



ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

- Η υγρασία του μελιού πρέπει να είναι μικρότερη από 20 %.
- Η αγωγιμότητα του μελιού είναι πολύ σημαντική παράμετρος και για την κατάταξη του μελιού (μέλια μελιτώματος > 0.8 mS/cm, μέλια ανθέων < 0.8 mS/cm)

Κριτήρια σύστασης μελιού

Directive 2001/110 EU				
Composition Criteria	Blossom Honey		Honeydew Honey *	
	General	Exception	General	Revised CODEX 2001
Moisture %	<20	<i>Calluna</i> and <i>baker's honey</i> < 23 <i>Baker's from Calluna</i> < 25	<20	The same No indication for <i>baker's honey</i>
Fructose + glucose % Sucrose %	>60 <5	<i>Robinia</i> , <i>Medicago</i> , <i>Banksia</i> , <i>Hedysarum</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Eucryphia</i> spp. and <i>Citrus</i> <10 <i>Lavandula</i> & <i>Borago</i> < 15	>45 <5	The same The same
Water-insoluble%	<0.1	Pressed honey < 0.5	<0.1	The same
Electrical conductivity mS. Cm ⁻¹	<0.8	<i>Chestnut</i> , <i>Arbutus</i> , <i>Erica</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Tilia</i> , <i>Calluna</i> , <i>Manuka</i> and <i>Melaleuca</i>	<0.8	The same
Free acid meq. kg ⁻¹	<50	<i>Baker's honey</i> < 50	<50	The same
Diatase activity DN **	>8	<i>Baker's honey</i> and honey with low natural enzyme content > 8 when HMF is less than 15 mg.kg ⁻¹	>8	Honeys with low natural enzyme content > 3 DN
HMF mg.kg ⁻¹ **	<50	<i>baker's honey</i> Honeys of tropical climate and blends of these honey < 80	<40	Honeys with low natural enzyme content > 3 DN. Honeys of tropical climate and blends <80

* Honeydew honey and blends of honeydew honey with blossom honey. ** Determined after processing and blending.

ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΜΕΛΙΟΥ

- Ποσοτικός προσδιορισμός μονο- και ολισακχαριτών: αναγωγικές, διαθλασιμετρικές, πυκνομετρικές κ.α.
 - Αναγωγικές μέθοδοι: μέθοδος Lane Eynon
 - Ιωδιομετρικός προσδιορισμός αλδοζών κατά Kolthoff
- Υγρασία-Στερεό υπόλειμμα
- Αγωγιμότητα
- Οξύτητα και pH
- Προσδιορισμός και ανίχνευση υδροξυμεθυλοφουρφουράλης (ΥΜΦ)
- Ανίχνευση αμυλοσιροπίου

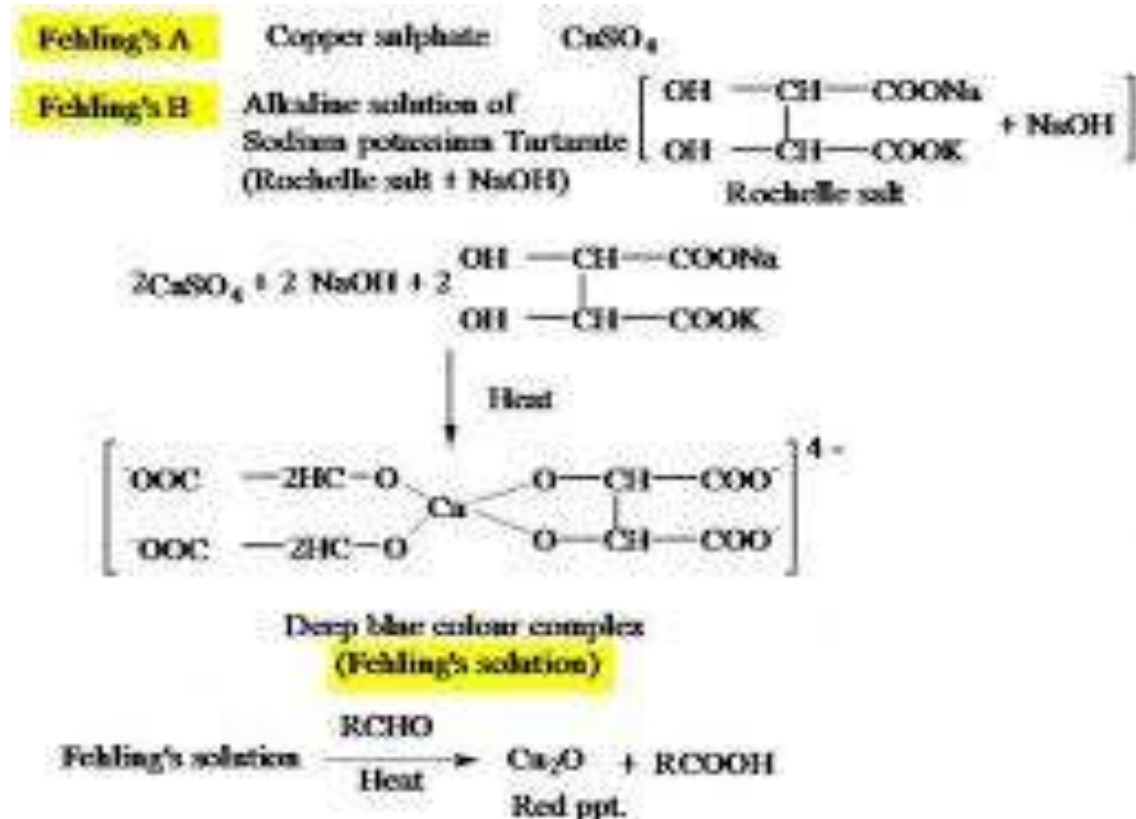
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

- Προσδιορισμός σακχάρων
 - Προσδιορισμός απευθείας αναγόντων σακχάρων (μέθοδος Lane-Eynon)
 - Προσδιορισμός συνολικών σακχάρων (μέθοδος Lane-Eynon),
 - Προσδιορισμός αλδοζών (μέθοδος Kolthoff)
- Ανίχνευση τεχνητού ιμβερτοζαχάρου
- Ανίχνευση αμυλοσιροπίου

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΑΚΧΑΡΩΝ

ΜΕΘΟΔΟΣ LANE EYNON

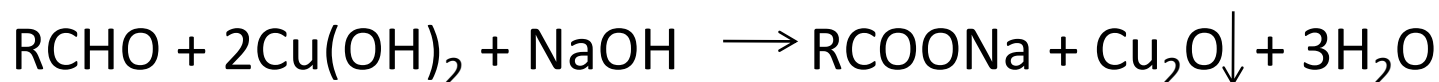
- Ο προσδιορισμός των σακχάρων στηρίζεται στην οξείδωση των σακχάρων από αλκαλικό διάλυμα Cu^{2+} παρουσία τρυγικού καλιονατρίου.
- Στη μέθοδο Lane Eynon, το σακχαρούχο διάλυμα προστίθεται σε μείγμα διαλυμάτων Fehling A και B (1:1) που βράζουν.
- Αρχικά αποσπάται οξυγόνο και παράγεται $\text{Cu}(\text{OH})_2$. Αυτό μεταπίπτει αμέσως στο κεραμοκόκκινο Cu_2O .



ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΑΚΧΑΡΩΝ

ΜΕΘΟΔΟΣ LANE EYNON

➤ Η συνολική αντίδραση οξειδοαναγωγικής είναι:



➤ Το τελικό σημείο της ογκομέτρησης αναγνωρίζεται παρουσία κυανού του μεθυλενίου που αποχρωματίζεται με την πρώτη περίσσεια ανάγοντος σακχάρου, αφήνοντας να φανεί το κεραμοκόκκινο χρώμα του σχηματισθέντος Cu_2O .

➤ Κατά την οξείδωση των σακχάρων, με πολύπλοκο τρόπο επέρχεται διάσπαση του μορίου των σακχάρων. Οι εξόζες διασπώνται σε τριόζες μεγαλύτερης αναγωγικής δύναμης.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Προετοιμασία αγνώστων δ/των για ιμβερτοποίηση (Προσδιορισμός συνολικών σακχάρων).

- 50 ml αγνώστου δείγ. μετρημένα με προχ. φέρονται σε ογκ. φ. των 100 ml + 3 ml HCl 0.5N- 30 min σε υδατόλουτρο (ιμβερτοποίηση καλαμοσακχάρου)
- ψύξη και εξουδετέρωση με 0,25 N NaOH και δ. φαινολοφθαλεΐνη, συμπλήρωση όγκου με απ. νερό. (προσδιορισμός συν. σακχ.)

Η υδρόλυση (ιμβερτοποίηση) των μη αναγόντων σακχάρων γίνεται με HCl και βρασμό. Ακολουθεί εξουδετέρωση του οξέος και προσδιορισμός των συνολικών σακχάρων. Με αφαίρεση των απ' ευθείας αναγόντων σακχάρων από τα συνολικά προκύπτει η ποσότητα των μη αναγόντων σακχάρων.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2. Προετοιμασία προτύπου σακχαρούχου δ/τος. (Προσδιορισμός Lane Eynon)

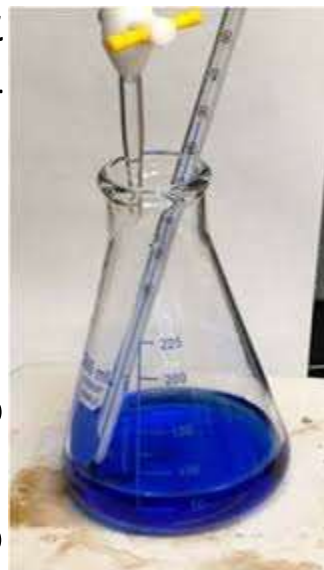
- 50 ml προτ. δ/τος μετρημένα με προχ. σε ογκ. φ. των 250 ml- εξουδετέρωση με δ/μα NaOH 27% και δ. φαινολοφθαλεΐνη - συμπλήρωση όγκου με απ. νερό.

- **Δοκιμαστική ογκομ.:** Το εξουδ. πρότ. σακχ. δ/μα φέρεται στην προχ. Σε κ. φ. 10 ml Fehling A (μετρημένα με προχ.) + 10 ml Fehling B + 30 ml προτ. Σακχ. δ/τος και το μίγμα θερμαίνεται.

- Με αλλαγή στο χρώμα του μίγματος (από έντονο μπλε γίνεται ελαφρώς καφέ) - 2-3 στg δείκτη κυανό του μεθυλενίου και βρασμός. Η ογκομ. μέχρι να εξαφανιστεί το κυανό χρώμα του δείκτη.

- **Κανονική ογκομ.:** Προστίθενται X-2ml προτ. Σακχ. δ/τος, θέρμανση και όπως παραπάνω

Πριν την προσθήκη δείκτη



Τελικό σημείο



ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3. Προσδιορισμός αναγόντων σακχάρων (Μέθοδος Lane Eynon)

•**Δοκιμαστική ογκομ.:** Στην προχ. φέρεται το άγνωστο δ/μα. Σε κ. φ. 10ml Fehling A (μετρημένα με προχ.) + 10ml Fehling B + 8 ml αγνώστου σακχ. δ/τος και το μίγμα θερμαίνεται.

•Ογκομ. κατά τα γνωστά.

•**Κανονική ογκομ.:** Προστίθενται Χ-2ml αγνώστου σακχ. δ/τος, θέρμανση και όπως παραπάνω

Τελικό σημείο



ΕΚΦΡΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Ανάγοντα σάκχαρα εκφρασμένα σε ιμβερτοσάκχαρο

Η % περιεκτικότητα του δείγματος σε ιμβερτοσάκχαρο υπολογίζεται από την σχέση

$$\text{Ιμβερτοσάκχαρο \%} = 0,2 \alpha/\beta,$$

όπου α = ο αριθμός των mL του πρότυπου σακχαρούχου διαλύματος που καταναλώθηκε κατά την ογκομέτρηση ορισμένου όγκου φελίγγειου υγρού,

β = ο αντίστοιχος αριθμός των mL του αγνώστου δείγματος που καταναλώθηκε κατά την ογκομέτρηση ίσου όγκου φελίγγειου υγρού.

* Η περιεκτικότητα του αγνώστου δείγματος σε ανάγοντα σάκχαρα (ιμβερτοσάκχαρα) πρέπει να κυμαίνεται στα όρια 0,3-0,8 % και οι συνθήκες πρέπει να τηρούνται σχολαστικά, για να είναι επαναλήψιμα τα αποτελέσματα.

Σημείωση: τα δείγματα είναι διαλύματα μελιού. Έτσι, προσδιορίζονται % W/V ανάγοντα σάκχαρα σε αυτό το διάλυμα. Θα δίνεται και η περιεκτικότητα του κάθε δείγματος σε μέλι % W/V. Έτσι, μπορεί να προσδιορίζονται τα ανάγοντα σάκχαρα στο μέλι % W/W.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4. Προσδιορισμός συνολικών σακχάρων. (Μέθοδος Lane Eynon- Δ/μα που παρασκευάστηκε παρ. 1))

•**Δοκιμαστική ογκομ.:** Στην προχ. φέρεται το άγνωστο δ/μα (εξουδετερωμένο). Σε κ. φ. 10 ml Fehling A (μετρημένα με προχ.) + 10 ml Fehling B + 8 ml αγνώστου σακχ. δ/τος και το μίγμα θερμαίνεται.

•Ογκομ. κατά τα γνωστά.

•**Κανονική ογκομ.:** Προστίθενται Χ-2ml αγνώστου σακχ. δ/τος, θέρμανση και όπως παραπάνω

Τελικό σημείο



ΕΚΦΡΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Συνολικά σάκχαρα απευθείας (ανάγοντα + ιμβερτοσάκχαρο από ιμβερτοποίηση της σακχαρόζης)

Η % περιεκτικότητα του δείγματος σε συνολικά σάκχαρα υπολογίζεται από την σχέση

$$\% \text{ συνολικά σάκχαρα} = 2 \times 0,2 \times \alpha / \beta$$

Όπου α = mL πρότυπου διαλύματος, και
 β = mL άγνωστου διαλύματος (δείγματος).

Ο συντελεστής 2 προκύπτει από την αραίωση του δείγματος κατά την ιμβερτοποίηση.

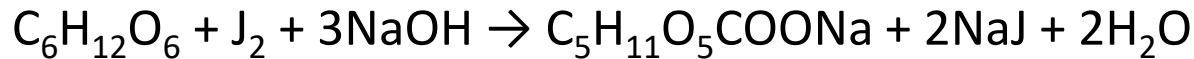
Υπολογισμός της ζαχαρόζης (καλαμοσάκχαρο)

Η σακχαρόζη προσδιορίζεται από τα ανάγοντα σάκχαρα μετά και πριν από την ιμβερτοποίηση.

Η περιεκτικότητα σε σακχαρόζη προκύπτει από τη διαφορά τους η οποία πολλαπλασιάζεται με τον συντελεστή 0,95.

ΙΩΔΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΛΔΟΖΩΝ ΚΑΤΑ ΚΟΛΤΗΟΦΦ

- Το σακχαρούχο διάλυμα κατεργάζεται με περίσσεια διαλύματος ιωδίου σε αλκαλικό περιβάλλον.
- Κατόπιν το διάλυμα οξινίζεται με HCl ή H₂SO₄ και η περίσσεια του J₂ ογκομετρείται με Na₂S₂O₃.



- Οι αλδόζες (π.χ. γλυκόζη, λακτόζη) οξειδώνονται προς τα αντίστοιχα αλδονικά οξέα, ενώ οι κετόζες (π.χ. φρουκτόζη) παραμένουν σχεδόν αναλλοίωτες

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5. Προσδιορισμός αλδοζών κατά Kolthoff

- Σε κ. φ. με εσφυρισμένο πώμα φέρονται 20 ml αγνώστου σακχ. δ/τος, 20 ml I_2 0.1 N και 5 ml NaOH 0.5 N.
- Μετά από 5 min παραμονή στο σκοτάδι + 5 ml H_2SO_4 5N και δ. άμυλο, ογκομ. με 0.1N $Na_2S_2O_3$ μέχρι αποχρωματισμού.
- Γίνεται και τυφλός προσδιορισμός με 20 ml απ. νερού.



ΕΚΦΡΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Προσδιορισμός αλδοζών

1 mL διαλύματος 0,1 N ιωδίου αντιστοιχεί σε 9,1 mg γλυκόζης.

- Με τη μέθοδο Lane-Eynon προσδιορίζονται τα (απευθείας) ανάγοντα σάκχαρα, με κύρια τη φρουκτόζη και τη γλυκόζη.
- Με τη μέθοδο Kolthoff προσδιορίζονται οι αλδόζες, με κύρια τη γλυκόζη, παρουσία κετοζών (με κύρια τη φρουκτόζη). Η γλυκόζη προσδιορίζεται με την μέθοδο Kolthoff οπότε με αφαίρεση προκύπτει η φρουκτόζη.
- Σε μίγμα γλυκόζης και φρουκτόζης, από τη διαφορά τους προκύπτει η περιεκτικότητα σε φρουκτόζη.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

6. Ανίχνευση τεχνητού ιμβερτοζαχάρου

Χρησ. δ/μα ρεσορκίνης, που προστίθεται σε εκχ. μελιού με αιθέρα.

- 4-5 g μελιού (ποτ. Ζ. 25 mL) + 5 mL αιθέρα.
- Το αιθερικό εκχύλισμα σε κάψα πορσελάνης, και εξάτμιση σε θερμ. περιβ. (αφήνεται προς εξάτμιση).
- Στο υπόλειμμα προστίθενται λίγες σταγόνες 1 % ρεσορκίνης σε π. HCl. (εργασία σε απαγωγό).
- Εμφάνιση έντ. κόκκινου χρώματος - ύπαρξη τεχνητού ιμβερτοσακχάρου.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

6. Ανίχνευση αμυλοσιροπίου

- 5 g μελιού (ποτ.ζ. 100 mL) διαλύονται σε 10 mL νερού.
- Προσθήκη 1 mL ταννίνης 10 %.
- Θέρμανση 15 min (υδατ.) , ψύξη και διήθηση.
- Σε 2 mL του διηθήματος + 2 στγ. π. HCl + 20 mL αλκοόλης, καλή ανατάραξη.
- Η εμφάνιση γαλακτώδους θολώματος δείχνει την νοθεία μελιού με αμυλοσιρόπι.