

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ BIOLOGICAL SCIENCES

Научная статья
УДК 577.15.08:638.162
ББК 36.847-1
Ц 59
DOI: 10.53598/2410-3225-2024-2-341-21-26

Дифференцированный подход к определению диастазного числа меда в зависимости от аналитических задач исследования (Рецензирована)

Аминет Джахфаровна Цикуниб¹, Арина Викторовна Колесникова²

^{1,2} Адыгейский государственный университет, Майкоп, Россия

¹ cikunib58@mail.ru

² arina.0102@mail.ru

Аннотация. Рассматривается дифференцированный подход к определению диастазного числа меда в зависимости от поставленных аналитических задач. На основе анализа различных данных показана роль диастазы (амилазы) в составе меда как показателя качества и натуральности. Обосновано влияние климато-географических условий и породных особенностей пчел на активность амилазы, выраженную в диастазном числе, которое определялось колориметрическим и амилокластическим методами. Авторы предлагают использовать амилокластический метод в варианте короткой ленты для экспресс-оценки натуральности и безопасности меда, в варианте средней ленты для оценки монофлерности меда и длинной ленты для выявления характерных значений активности амилазы при проведении научных исследований.

Ключевые слова: мед, амилаза, диастазное число, амилокластический метод, колориметрический метод

Для цитирования: Цикуниб А. Д., Колесникова А. В. Дифференцированный подход к определению диастазного числа меда в зависимости от аналитических задач исследования // Вестник Адыгейского государственного университета. Сер. : Естественно-математические и технические науки. 2024. Вып. 2 (341). С. 21–26. DOI: 10.53598/2410-3225-2024-2-341-21-26

Original Research Paper

Differentiated approach to determining the diastase number of honey depending on the analytical tasks of the study

Aminet D. Tsikunib¹, Arina V. Kolesnikova²

^{1,2} Adyghe State University, Maykop, Russia

¹ cikunib58@mail.ru

² arina.0102@mail.ru

Abstract. A differentiated approach to determining the diastase number of honey depending on the set of analytical tasks is considered. Based on the analysis of various data, the role of diastase (amylase) in the composition of honey as an indicator of quality and naturalness is shown. The influence of climatic and geographical conditions and breed characteristics of bees on the activity of amylase, expressed in the diastase number, which was determined by colorimetric and amyloclastic methods, is substantiated. The authors propose to use the amyloclastic method in the short tape version for rapid assessment of the naturalness and safety of honey, in the medium tape version for as-

sessing the monoflora of honey and long tape to identify characteristic values of amylase activity during scientific research.

Keywords: honey, amylase, diastase number, amyloclastic method, colorimetric method

For citation: Tsikunib A. D., Kolesnikova A. V. Differentiated approach to determining the diastase number of honey depending on the analytical tasks of the study // *The Bulletin of the Adyghe State University. Ser. : Natural-Mathematical and Technical Sciences. 2024. Iss. 2 (341). P. 21–26. DOI: 10.53598/2410-3225-2024-2-341-21-26*

Введение. Мед является одним из древнейших пищевых продуктов в питании человека. Натуральный мед характеризуется высоким содержанием витаминов, микроэлементов и других полезных веществ [1]. Все натуральные мёды, которые хранятся с соблюдением необходимых условий, также содержат ферменты [2], и одним из важнейших и наиболее изученных является диастаза (амилаза) – фермент, который метаболизирует крахмал до декстрина и мальтозы [3]. Амилаза вырабатывается слюнными и глоточными железами пчел в процессе переработки нектара в мед [4], а также может попадать в состав меда из растений, с которых был собран нектар, но в незначительном количестве: всего 1–2% [5]. Об активности амилазы судят по диастазному числу (ДЧ), которое принято выражать в единицах Готе.

Числовое значение ДЧ в мёдах имеет широкую вариативность, так как зависит от многих факторов. На ДЧ оказывают существенное влияние породные особенности пчел, вид и климато-географические условия произрастания медоносного растения. Так, например, ДЧ южных сортов меда составляет 5–9 единиц Готе, меда из Башкортостана или Алтая – до 18, а в мёде северных и северо-восточных регионов – 25–45 единиц и выше [6, 7]. ДЧ зависит также от монофлорности, которая регламентируется нормативными документами. ДЧ монофлорных мёдов, таких как акациевый, липовый, каштановый, подсолнечниковый, гречишный, должно быть не менее 5,0; 8,0; 10,0; 15,0 и 18,0 ед. Готе соответственно [8].

Снижение количества амилазы в мёде может указывать на нарушение условий его переработки и хранения, а также свидетельствовать о фальсификации меда [9]. Во-первых, амилаза чувствительна к действию как низких, так и высоких температур, что позволяет использовать ее в качестве индикатора тепловой обработки меда. В натуральном мёде, хранившемся в оптимальных условиях (температура не ниже 10°C и не выше 20°C) исходная активность амилазы практически не меняется [10]. Во-вторых, активность амилазы снижается при фальсификации меда: мед, полученный с применением сахарной подкормки, имеет низкую диастазную активность [11]. В-третьих, амилаза может вступать в химические реакции с экзогенными веществами, попадающими в мед извне, в частности алкалоидами ядовитых растений, что также может снижать его активность [12]. Активность амилазы, выраженная в единицах ДЧ, является одним из основных показателей качества, натуральности и безопасности меда [3].

Согласно ГОСТ 19792–2017 «Мед натуральный. Технические условия», ДЧ для всех видов меда (кроме акации) должно быть не менее 8 ед. Готе, а ДЧ ниже нормы может свидетельствовать о нарушении натуральности и безопасности меда [8, 13]. Указанные особенности амилазы, возможный широкий интервал варьирования активности фермента в зависимости от целого ряда факторов с одной стороны, а с другой – резкое снижение активности из-за высокой чувствительности к экзогенным факторам, позволили выдвинуть гипотезу о возможности различного методического подхода к определению ДЧ в зависимости от задач исследования: а) выявление натуральности и безопасности меда в соответствии с требованиями ГОСТ 2192–2017; б) выявление монофлорности меда в соответствии с ГОСТ 31766–2022; в) выявление характерных значений активности амилазы в привязке к породным особенностям пчел и к климато-географическим условиям в рамках научных исследований.

Цель исследования: разработка дифференцированного подхода к определению диастазного числа меда в зависимости от аналитических задач исследования.

Материалы и методы. Исследованы разные виды меда, произведенные фермерами республики Адыгея в разные годы.

2022 год: проба № 1 – мед «Каштановый»; проба № 2 – мед «Липовый»; проба № 3 – мед «Акациевый»; проба № 4 – мед «Цветочный (разнотравье)»; проба № 5 – мед «Цветочный (разнотравье)»; проба № 6 – мед «Цветочный (разнотравье)».

2023 год: проба № 7 – мед «Цветочный (разнотравье)»; проба № 8 – мед «Гречишный»; проба № 9 – мед «Липовый».

ДЧ определяли двумя методами: колориметрическим по п. 8 ГОСТ 34232–2017 [14] и оптимизированным амилокластическим [15].

Колориметрический метод (КМ) позволяет определять ДЧ в диапазоне измерений от 3,0 до 40,0 ед. Готе, амилокластический метод – в пределах 6,5–50 ед. Готе. Амилокластический метод (АМ) был реализован в трех вариантах, позволяющих определять ДЧ в разных интервалах: длинная лента – интервал 6,5–50 ед. Готе (АМ_{дл}); средняя лента – интервал 6,5–23,8 ед. Готе (АМ_{сл}); короткая лента – интервал 6,5–10,9 ед. Готе (АМ_{кл}). АМ_{кл} является экспрессным методом, реализуется с использованием 3 пробирок, из которых пробирка № 2, соответствующая ДЧ=8,3 ед. Готе, является контрольной (КП№2), а пробирки № 1, № 3, соответствующие ДЧ=10,9 ед. Готе и 6,5 ед. Готе, являются вспомогательными (ВП№ 1 и ВП№ 3). АМ_{кл} позволяет получить результат в интервале 6,5–10,9 ед. Готе: если в КП № 2 и ВП № 1 раствор окрасился в желтый цвет, то в анализируемой пробе ДЧ более 8 ед. Готе, а если в КП№ 2 и в ВП№ 3 растворы окрасились в синий цвет, ДЧ меньше 8 ед. Готе.

На этот метод разработан тест-набор «Экспресс-метод определения активности альфа-амилазы в меде Вее-ДЧ».

Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы: набор реагентов «Экспресс-метод определения активности альфа-амилазы в меде Вее-ДЧ», спектрофотометр «ЮНИКО UV-2802S»; рН-метр Эксперт-001(03), весы прецизионные Ohaus Pioneer PX223/E; баня водяная лабораторная Stegler ТБ-4А; термометр ртутный стеклянный лабораторный с диапазоном значений от 0°С до 100°С; секундомер механический; шпатель лабораторный, шкаф сушильный, температура нагрева до 250°С; электроплитка; палочки стеклянные лабораторные; эксикатор; стаканы В-1-50 ТС; цилиндры мерные 1-100-2; колбы мерные 1(2)-50(100,250,500)-2(ПМ); колбы конические Кн-1(2,3)-25(50,250)-29/32(34) ТС; пробирки П-2-20-14/23 ХС; стаканчики для взвешивания СН-45/13(60/14); пипетки 1-2-1-1(2,5,10,25); натрий хлористый х. ч.; натрий уксуснокислый 3-водный, ч. д. а.; кислота уксусная, х. ч. ледяная; крахмал растворимый, ч. д. а.; йод, ч. д. а., дважды возогнанный; калий йодистый, х. ч.; вода дистиллированная.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты определения ДЧ в исследованных пробах разными методами представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы, результаты определения ДЧ в пробах меда, полученные колориметрическим и амилокластическим методами, не имеют достоверных различий. Так, в пробах № 1, № 2, № 3 результаты, полученные разными методами, совпадают. В пробах № 4, № 5, № 6 ДЧ ниже чувствительности как колориметрического, так и амилокластического методов, 30 ед. Готе и 6,5 ед. Готе соответственно. В пробах № 7, № 8, № 9 разница в результатах определения ДЧ, согласно п. 7.6.2. ГОСТ 34232-2017, укладывается в пределы повторяемости $r=0,07 \bar{x}$ ед. Готе при $P=0,95$ [14]. Результаты определения ДЧ в меде, полученные амилокластическим методом в пробах № 1, № 2, № 3, № 7, № 8, № 9, укладываются также в регламентированные пределы воспроизводи-

сти определения ДЧ: согласно тому же пункту, укладывается в пределы воспроизводимости $R=0,15 \bar{x}$ ед. Готе при $P=0,95$ [14]. Соответствие метрологических характеристик АМ по пределам повторяемости и воспроизводимости КМ обосновывает приемлемость АМ в разных вариантах в достоверном определении ДЧ в меде.

Таблица 1

Диастазное число в пробах меда, полученная колориметрическим методом в условиях повторяемости и воспроизводимости и амилокластическим методом в разных вариантах

Table 1. Diastase number in honey samples obtained by colorimetric method under conditions of repeatability and reproducibility and by amyloclastic method in different variants

№ пробы	Диастазное число, ед. Готе						
	КМ _П ⁽¹⁾	Предел повторяемости	КМ _В ⁽²⁾	Предел воспроизводимости	АМ _{ДЛ} ⁽³⁾	АМ _{СЛ} ⁽⁴⁾	АМ _{КЛ} ⁽⁵⁾
1	15,88±0,8	[3–40]	15,5±2,38	[13,13–17,88]	15,88±2	15,88±2	>8,0
2	10,88±0,54	[3–40]	10,63±1,5	[9,13–12,13]	10,9±0	10,9±0	>8,0
3	9,13±0,58	[3–40]	8,88±1,3	[9,13–12,13]	9,13±1,5	9,13±1,5	>8,0
4	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о
5	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о
6	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о
7	18,25±0,91	[3–40]	18,38±2,75	[17,63–23,12]	20,85±1,5	20,85±1,5	>8,0
8	39,63±2,37	[3–40]	39,7±5,95	[35,38–47,88]	44,2±5,8	44,2±5,8	>8,0
9	25±1,25	[3–40]	25,4±3,8	[21,25–28,75]	26,6±2,8	26,6±2,8	>8,0

Примечание: н/о – ниже предела чувствительности метода; ⁽¹⁾КМ_П – в условиях повторяемости; ⁽²⁾КМ_В – в условиях воспроизводимости; ⁽³⁾АМ_{ДЛ} – длинная лента; ⁽⁴⁾АМ_{СЛ} – средняя лента; ⁽⁵⁾АМ_{КЛ} – короткая лента.

Заключение. Полученные результаты позволили обосновать возможность применения дифференцированного подхода к определению диастазного числа меда в зависимости от аналитических задач исследования. Так, выявление натуральности и безопасности меда возможно с использованием экспрессного варианта амилокластического метода, представленного короткой лентой из 3 пробирок (АМ_{КЛ}). Если ставится аналитическая задача выявления монофлорности меда, можно рекомендовать АМ_{СЛ}, представленный из 6 пробирок, позволяющий оценить ДЧ в диапазоне 6,5–23,8 ед. Готе. Для выявления характерных значений амилокластического метода в привязке к климатико-географическим условиям, в том числе в полевых условиях, можно рекомендовать АМ_{ДЛ}, позволяющий оценить ДЧ в диапазоне 6,5–50 ед. Готе. Амилокластический метод, в особенности в варианте АМ_{КЛ}ЭКСПРЕСС, в отличие от колориметрического метода, реализуется с затратой меньшего количества времени и с применением простого набора оборудования, доступного не только индивидуальным предпринимателям-пчеловодам, но и в домашних условия.

Примечания

1. Activity of salivary glands in secreting honey-elaborating enzymes in two subspecies of honeybee (*Apis mellifera* L): Honey-elaborating enzymes in salivary glands / A. Al-Sherif, A. Mazed, M. Ewis [et al.] // *Physiological Entomology*. 2017. DOI: 10.1111/phen.12213
2. Бердова А. К. Идентификация и ветеринарно-санитарная оценка натурального цветочного меда // *Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ*. 2016. № 3 (6). С. 4–9.
3. Есенкина С. Н., Серебрякова О. В. Активность инвертазы и диастазного числа в меде разного ботанического происхождения // *Пчеловодство*. 2019. № 8. С. 52–53.
4. Симаков М. К. Биологические основы экологии медоносной пчелы : учеб. пособие. Пермь : Прокрость, 2018. 137 с.

5. Effect of Thermaltreatment on the Quality of Honey Samples from Crete / S. Blidi, P. Gotsiou, S. Loupassaki [et al.] // *Advances in Food Science and Engineering*. 2017. Vol. 1, No. 1. 8 p.
6. Ишемгулов А. М. Экономико-экологическая зона Башкортостана для производства высококачественной продукции пчеловодства // *Пчеловодство*. 2019. № 10. С. 7–9.
7. Самсонова И. Д., Нгуен Т. З. Актуальность вопроса изучения лесных медоносных ресурсов Северо-Запада России // *Актуальные проблемы лесного комплекса*. 2019. № 55. С. 86–90.
8. Меды монофлорные. Технические условия. ГОСТ 31766–2022.
URL: <http://gost.gtsever.ru> (дата обращения: 23.03.2024).
9. Assessment of diastase levels in various types of flower honey from the Oromia region, Ethiopia / D. K. Meskele, T. Damto, M. Gameda, G. Laggase // *Open J. Anal Bioanal Chem*. 2022. No. 6 (1). P. 024–029. DOI: 10.17352/ojabc.000027
10. Bell A. An investigation of low diastase activity in mānuka honey. New Zealand : The University of Waikato, 2022. 158 p.
11. Amber R. Bell, Meghann N. C. Granger. Accelerated loss of diastase in mānuka honey: Investigation of mānuka specific compounds // *Food Chemistry*. 2023. Vol. 426. P. 136614. DOI: 10.1016/j.foodchem.2023.136614
12. Oryan A., Alemzadeh E., Moshiri A. Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: A narrative review and meta-analysis // *J. Tissue Viability*. 2016. No. 25 (2). P. 98–118. DOI: 10.1016/j.jtv.2015.12.002
13. Мед натуральный. Технические условия. ГОСТ 19792-2017.
URL: <http://gost.gtsever.ru> (дата обращения: 23.03.2024).
14. Мед. Методы определения активности сахаразы, диастазного числа, нерастворимых веществ. ГОСТ 34232–2017. URL: <http://gost.gtsever.ru> (дата обращения: 23.03.2024).
15. Кост Е. А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. Москва, 1975. 244 с.

References

1. Activity of salivary glands in secreting honey-elaborating enzymes in two subspecies of honeybee (*Apis mellifera* L): Honey-elaborating enzymes in salivary glands / A. Al-Sherif, A. Mazed, M. Ewis [et al.] // *Physiological Entomology*. 2017. DOI: 10.1111/phen.12213
2. Berdova A. K. Identification and veterinary and sanitary evaluation of natural flower honey // *Electronic Scientific and Methodical Journal of Omsk GAU*. 2016. No. 3 (6). P. 4–9.
3. Esenkina S. N., Serebryakova O. V. Invertase activity and diastase number in honey of different botanical origin // *Beekeeping*. 2019. No. 8. P. 52–53.
4. Simakov M. K. Biological bases of honey bee ecology : a manual. Perm : Prokrost, 2018. 137 p.
5. Effect of Thermaltreatment on the Quality of Honey Samples from Crete / S. Blidi, P. Gotsiou, S. Loupassaki [et al.] // *Advances in Food Science and Engineering*. 2017. Vol. 1, No. 1. 8 p.
6. Ishemgulov A. M. Economic and ecological zone of Bashkortostan for production of high quality beekeeping products // *Beekeeping*. 2019. No. 10. P. 7–9.
7. Samsonova I. D., Nguen T. Z. Relevance of the issue of studying forest honey-bearing resources of the North-West of Russia // *Actual Problems of Forest Complex*. 2019. No. 55. P. 86–90.
8. Monofloral honeys. Technical conditions. GOST 31766–2022. URL: <http://gost.gtsever.ru> (access date: 23/03/2024).
9. Assessment of diastase levels in various types of flower honey from the Oromia region, Ethiopia / D. K. Meskele, T. Damto, M. Gameda, G. Laggase // *Open J. Anal Bioanal Chem*. 2022. No. 6 (1). P. 024–029. DOI: 10.17352/ojabc.000027
10. Bell A. An investigation of low diastase activity in mānuka honey. New Zealand : The University of Waikato, 2022. 158 p.
11. Amber R. Bell, Meghann N. C. Granger. Accelerated loss of diastase in mānuka honey: Investigation of mānuka specific compounds // *Food Chemistry*. 2023. Vol. 426. P. 136614. DOI: 10.1016/j.foodchem.2023.136614
12. Oryan A., Alemzadeh E., Moshiri A. Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: A narrative review and meta-analysis // *J. Tissue Viability*. 2016. No. 25 (2). P. 98–118. DOI: 10.1016/j.jtv.2015.12.002
13. Natural honey. Technical conditions. GOST 19792-2017. URL: <http://gost.gtsever.ru> (access date: 23/03/2024).

14. Honey. Methods for determination of sucrose activity, diastase number, insoluble substances. GOST 34232–2017. URL: <http://gost.gtsever.ru> (access date: 23/03/2024).

15. Kost E. A. Handbook of clinical laboratory methods of investigation. Moscow, 1975. 244 p.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 12.04.2024; одобрена после рецензирования 21.04.2024; принята к публикации 22.04.2024.

The authors declare no conflicts of interests.

The article was submitted 12.04.2024; approved after reviewing 21.04.2024; accepted for publication 22.04.2024.

© А. Д. Цикуниб, А. В. Колесникова, 2024