

Gyümölcslevek és gyümölcslé-sűrítmények eredetvizsgálata*

*Schmidt, C. O., Krammer, G., Stapf, G., Werkhoff, P.,
Meier, L. & Bertram, H.-J.*

Haarmann és Reimer, Holzminden (Németország)

Érkezett: 2001. 11. 20.

A gyümölcslevek és gyümölcslé-sűrítmények összetételét sok tényező befolyásolja. A gyümölcsfajta, a földrajzi eredet, éghajlat és érettség valamint a lényerési és további feldolgozási technológia komplexképet ad, amit számos analitikai eljárással lehet pontosabban jellemezni. Az AIJN (az Európai Unió Gyümölcs-, Zöldséglé és Nektár Előállítóinak Szövetsége) módszergyűjteménye [1] megbízható alapot nyújt a gyümölcslevek minőség- és eredetiségvizsgálatához. A cukrozás esetén az izotóparányelemzés fontos kritériummá vált. A dolgozat áttekinti a gyümölcslevek értékelésére szolgáló újabb eljárásokat és az izotópanalízis terén nyert legújabb adatokat a Haarmann és Reimer cégnél.

A gyümölcslé-sűrítmények klasszikus eredetiségvizsgálata

A gyümölcslé terméktulajdonságainak meghatározása különösen összetett. Egy teljes elemzés a gyümölcsfajtától függően akár 50 különböző paramétert is jelenthet, amelyeket azután, mint egy kirakós játék darabjait, analízisképpé kell összerakni. Az analízisképből azután a gyümölcslé szakszerű értékelése elvégezhető. Az RSK értékek [2] és a Gyakorlati Kódex [3] értékes segédeszközök ebben. Annak meghatározása, hogy egy gyümölcslé jellemzéséhez milyen paraméterek elégségesek, objektív és időbeli szempontoktól függ.

Egy gyümölcslé és gyümölcslé-sűrítmény import ellenőrző labornak a lehető legrövidebb idő alatt a lehető legtöbb jellemző paramétert kell meghatároznia. Ez azt jelenti, hogy ki kell választani azokat a paramétereket és módszereket, amelyek specifikusak, a napi rutinban alkalmazhatók és lehetőleg automatizálhatók. A nagy mintaszám ugyanakkor magas szintű termékbiztonságot is jelent. A meghatározandó klasszikus gyümölcslé paraméterek mint az oldható szárazanyag és a titrálható savtartalom a következő lépés a gyümölcssavak enzimes meghatározása.

* Authentizitätsprüfung von Fruchtsäften und Fruchsaftkonzentraten
Flüss. Obst 2001(7), 371-374.

Ezt követi a cukrok és savak meghatározása a gyümölcsleiben, mivel ezek a paraméterek könnyen manipulálhatóak. Legtöbbször a glukóz, fruktóz, összes glukóz (szacharóz), citromsav, L-almasav és a D-izocitromsav a mérendő. A vizsgálathoz tartozik még az ásványi anyagok analitikája a K, Na, Ca és Mg meghatározásával; a szabad aminosavak eloszlásának meghatározása, valamint karotin-tartalmú gyümölcsökben a karotin frakció eloszlásának vizsgálata (karotin szénhidrogének, karotin észterek és karotin savak).

A további vizsgálati módszerek közül a HPLC módszerek igen előkelő helyet foglalnak el és sok más alkalmazási területet fednek le. A HPLC módszerekre példa a következő minőségi kritériumok analitikai vizsgálata, amely az egyes gyümölcslevek természetes eredetét igazolhatja:

- gyümölcs-specifikus alkotórészek, például gyümölcssavak (almasav, kinasav, borkősav) meghatározása;
- szintetikus savhozzáadás kimutatása pl. almalé-sűrítvényben a fúmsav meghatározás segítségével;
- mikroorganizmusok anyagcseretermékének (patulin) meghatározása almalé-sűrítvényben;
- héj kezelésére szolgáló szerek (pl. thiabendazol) kimutatása citrus gyümölcslevekben;
- flavonoid- és antocianin összetétel meghatározása, amely alkalmas pulposadék, *Citrus reticulata* vagy idegen bogyógyümölcs hozzáadás kimutatására.

Az RSK értékeket és a Gyakorlati Kódexet állandóan tovább fogják fejleszteni, a fejlődésnek megfelelően kibővíteni, ezzel az egyes gyümölcslevek aktuális értékeléséhez hasznos segédeszközt nyújtva. Az utóbbi években a gyümölcslevek értékelése új kritériumokkal bővül az új analitikai eljárások, (pl. izotópanalitika) révén. Ez a technika meghatározóvá vált a gyümölcslé-analitikában, mivel pontos adatokat szolgáltat a gyümölcslevek eredetiségéről az izotóparányok, illetve a cukor/sav belső összefüggések révén.

Izotóparány-elemzés

A gyümölcslevek és gyümölcslé-sűrítvények eredetiségvizsgálatához újabban kidolgozott módszerek között előkelő helyet foglal el a tömegspektrometriás izotóparány-mérés. Ezzel a módszerrel a fő- és mellékizotóparány igen pontos mennyiségi meghatározása végezhető el. (Izotóparány-tömegspektrometria angol nevének rövidítése: IRMS). Az érdeklődés középpontjában az oxigén, nitrogén, hidrogén és szén áll. A szén természetesen előforduló stabil izotópjai a ^{13}C mint mellékizotóp és a

^{12}C , mint főizotóp. A szénmérés standardjaként egy fosszilis karbonát (Pee Dee Belemnite Dél-Karolinából, röviden PDB illetve V-PDB a bécsi PDB-é [3]). A mért értékeket a fenti standardra vonatkoztatva az alábbi egyenlettel számolják ki és $\delta^{13}\text{C}$ értéként ezrelékben (‰) adják meg.

A $\delta^{13}\text{C}$ CV-PDB érték ingadozási tartománya

A fotoszintézis során az asszimilációs típustól függően különböző $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ arányú szerves vegyületek képződhetnek, amit az 1. táblázat is mutat.

1. táblázat: A $\delta^{13}\text{C}$ CV-PDB érték és az asszimiláció típusa [4]

CO ₂ megkötés	növénycsoport	$\delta^{13}\text{C}$ CV-PDB (‰)
C ₃ növények	cukorrépa, narancs	-24-...-32
CAM (keresztesvirágúak)	Vanilla planifolia, ananász	-12-...-30
C ₄ növények	cukornád, kukorica	-10-...-16

Különösen nagy a különbség a C₃ és C₄ növények értéktartományai között.

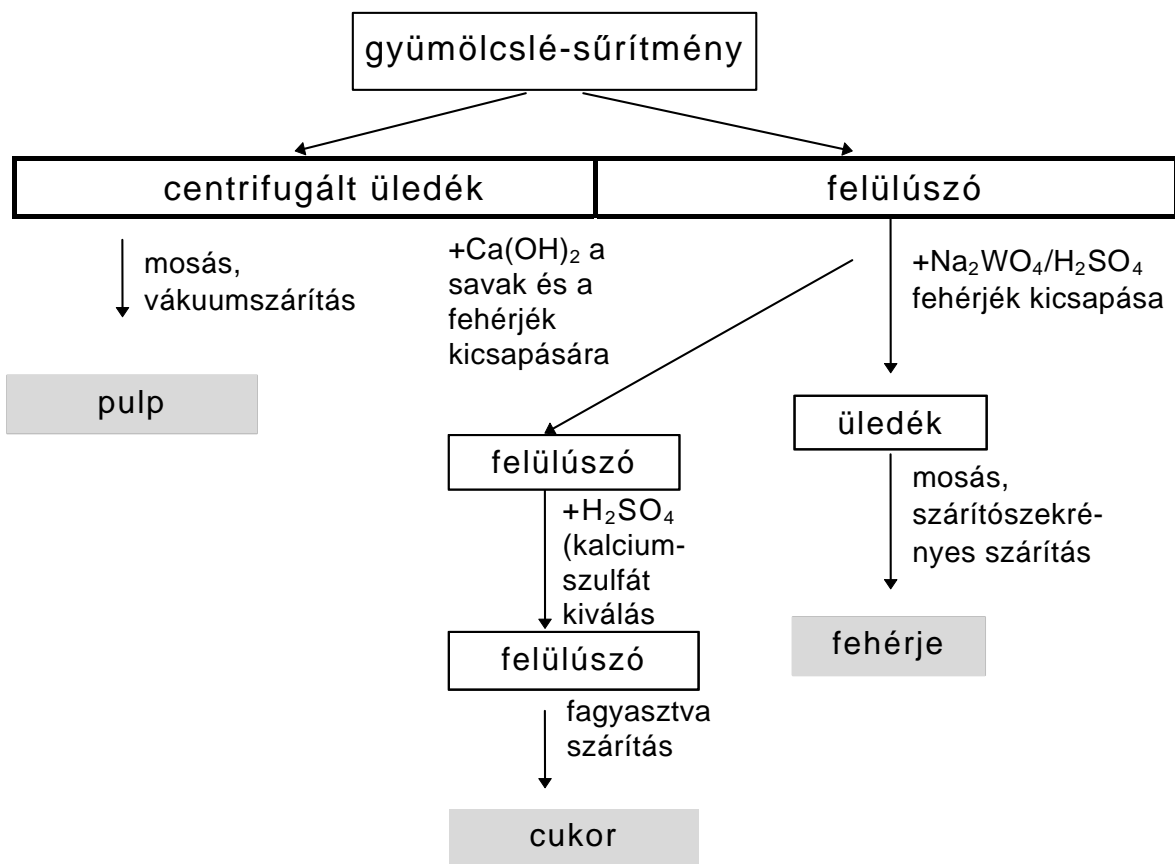
A $\delta^{13}\text{C}$ CV-PDB értékek meghatározása

A $\delta^{13}\text{C}$ CV-PDB értékek online meghatározásának mérés technikai megoldásai közül különbséget kell tenni az illó anyagok (pl. aromaanyagok) meghatározására [5, 6] alkalmas gázkromatográfia-IRMS csatolás, illetve a nem illó anyagok meghatározására használt elemanalizátor-IRMS csatolás között. Az alapelv mindkét elemző rendszerben a szerves vegyületek széndioxiddá alakítása a tömegspektrometriás méréshez.

Gyümölcslelé sűrítvények IRMS elemzése

A gyümölcslevek a könnyen illó aromaanyagokon kívül főként vizet, szénhidrátot, fehérjét és étkezési savakat (citromsavat, almasavat stb.) tartalmaznak. A sűrítvény előállítása során az aromaanyagok és a víz nagyrészt eltávozik a léből. A gyümölcslelé sűrítvények eredetiségvizsgálatára a cukor, savak, fehérjék és a pulp elemzése alkalmas. Az időközben kifejlesztett IRMS technikával ezek a vegyületek jellemezhetők. Mivel ezek elég poláros vegyületek, a GC-IRMS csatolás kiesik, ehelyett az egyes vegyületcsoportokat egymástól el kell különíteni, utána elemanalizátor-IRMS módszerrel egyenként elemezhetők.

A különböző alkotók elválasztására egy elválasztási protokollt dolgoztak ki, ami az 1. ábrán látható. A pulp és az összes cukor izolálása egy európai előszabvány szerint történik [7], a fehérjék izolálása pedig Jamin is munkatársai [8] módszerével.



1. ábra: A gyümölcsle sűrítvény alkotórészeinek elválasztási sémája

A sűrítvények hamisítása leggyakrabban idegen cukor hozzáadásával történik. A cukorhozzáadás kimutatásához a gyümölcsleiben található cukor $\delta^{13}\text{C}$ értékeit kell meghatározni. A 2. táblázatban láthatók a különböző eredetű cukrok tipikus $\delta^{13}\text{C}$ értékei.

2.táblázat: Különböző eredetű cukrok $\delta^{13}\text{C}$ értékei

cukorforrás	$\delta^{13}\text{C}_{\text{CV-PDB}} \pm 0,2$ (‰) saját analízis	$\delta^{13}\text{C}_{\text{CV-PDB}} \pm 0,2$ (‰) irodalmi érték
grapefruit	-26,8	-25-től -28-ig [1]
ananász	-15,0	-10,8-től -13,9 [9]
narancs	-25,4	-24-től -27-ig ^a
citrom	-25,7	-24-től -27-ig [1, 10]
mandarin	-26,6	nincs adat
banán	-23,8	nincs adat
cukornád	-11,1-től -11,6-ig	-11,0-től -11,5-ig [11]
cukorrépa	-25,2-től -26,1-ig	-25,0-től -27,2-ig [12]

^a lehetséges értéktartomány Simpkin és munkatársai [13] szerint -22,5-től -27,0 ‰

A 2. táblázatból látható, hogy egyes hamisítások az IRMS analitikával könnyen kimutathatók, például a narancslé-sűrítmény hamisítása nádcukorral rögtön kiugrik, éppúgy, mint az ananászlé sűrítmény répacukorral való hamisítása. Másrészt viszont a narancslé répacukorral végzett hamisítása nehezen detektálható. A $\delta^{13}\text{C}$ érték mért kisebb eltérései a természetes ingadozás vagy a mérési hiba határán lehetnek. Az ilyen hamisítások biztonságos azonosításához olyan módszerekre van szükség, melyek a sűrítmény több alkotóját elemzik.

Ezekkel a módszerekkel a cukor $\delta^{13}\text{C}$ értéke mellett a savaké, pulpé vagy fehérjéé is mérhető. A valódiság eldöntésére a $\delta^{13}\text{C}$ cukor és a $\delta^{13}\text{C}$ fehérje, vagy a $\delta^{13}\text{C}$ pulp értékek használhatók, mivel ezek a különbségek viszonylag állandóak. A leírt módszert „intermolekuláris izotóp standard módszer”-nek is nevezik. A 3. táblázat a cukrok és fehérjék $\delta^{13}\text{C}$ értékkülönbségeit mutatja (I. módszer) különböző eredetű gyümölcs-sűrítményekben.

3. táblázat: Különböző eredetű gyümölcs-sűrítmények cukor és fehérje $\delta^{13}\text{C}$ értékei (I. módszer)

Gyümölcs	$\delta^{13}\text{C}_{\text{CV-PDB}} \pm 0,2$ (‰) cukor	$\delta^{13}\text{C}_{\text{CV-PDB}} \pm 0,2$ (‰) fehérje	$\delta^{13}\text{C}$ fehérje- $\delta^{13}\text{C}$ cukor saját mérés	$\delta^{13}\text{C}$ fehérje- $\delta^{13}\text{C}$ cukor irodalmi [8]
Grapefruit	-26,8	-28,8	-2,0	$-1,3 \pm 0,5$
Ananász	-15,0	-18,6	-3,6	$-0,1 \pm 0,5$
Narancs	-25,4	-28,0	-2,6	$-1,0 \pm 0,7$
Citrom	-25,7	-27,9	-2,2	$-0,5 \pm 0,7$
Mandarin	-26,6	-29,1	-2,5	nincs adat
Banán	-23,8	-24,5	-0,7	nincs adat

Látható, hogy a saját elemzési eredmények nem mindig vannak összhangban az irodalmi értékekkel. Ez azzal magyarázható, hogy a módszerek egészen újak és még nem végzik ezeket rutinszerűen. Ezért a $\delta^{13}\text{C}$ cukor- $\delta^{13}\text{C}$ pulp különbségeket is meg kell határozni. (II. módszer, 4. táblázat).

A $\delta^{13}\text{C}$ cukor- $\delta^{13}\text{C}$ pulp értékek különbsége (II. módszer) olyan adatokat szolgáltat, melyek a készülék pontossági határán belül az irodalmi értékekkel egybehangzóak. Ez a módszer ilyen módon jobb indikátora a gyümölcs-sűrítvány eredetiségvizsgálatának, mint az I. módszer, a fehérje $\delta^{13}\text{C}$ értékeinek mérése.

**4. táblázat: Különböző gyümölcs-sűrítmények
cukor és pulp $\delta^{13}\text{C}$ értékei (II. módszer)**

Gyümölcs	$\delta^{13}\text{C}_{\text{CV-PDB}} \pm 0,2$ (‰) cukor	$\delta^{13}\text{C}_{\text{CV-PDB}} \pm 0,2$ (‰) pulp	$\delta^{13}\text{C}$ pulp- $\delta^{13}\text{C}$ cukor saját mérés	$\delta^{13}\text{C}$ pulp- $\delta^{13}\text{C}$ cukor irodalmi [8]
Grapefruit	-26,8	-26,2	-0,6	-0,5-től +0,23-ig ¹²
Ananász	-15,0	-16,0	+1,0	+0,6 ¹⁴
Narancs	-25,4	-25,5	+0,1	-0,08 - +0,69-ig ¹²
Citrom	-25,7	-26,6	+0,9	+0,88
Mandarin	-26,6	-26,3	-0,3	nincs adat
Banán	-23,8	-24,7	+0,9	nincs adat

A II. módszer nagyobb információértéke valószínűleg annak köszönhető, hogy egy sűrítmenyből több pulp nyerhető, mint fehérje és ez csökkenti a lehetséges hibaforrásokat (lásd az elválasztási sémát az 1. ábrán). Eközben az irodalomban leközltek az első eredményeket az étkezési savak $\delta^{13}\text{C}$ értékeinek meghatározásáról. Erre lényegében minden olyan elválasztás alkalmas, mely különböző preparatív kromatográfiás lépést tartalmaz. Arra is lehetőség nyílik, hogy a fehérjék vagy aminosavak $\delta^{15}\text{N}$ mérését végezzék el vagy a cukrok mennyiségi deutérium-NMR mérését. Ezeket a méréseket természetesen visszahígított sűrítmenyekkel végzik. Direkt levekre emellett a gyümölcslében levő víz $\delta^{18}\text{O}$ és $\delta^2\text{H}$ értékei is eredetiségjelzőként szolgálhatnak, kizárandó a vizes hígítást [17].

Összefoglalás

A bemutatott eredmények igazolják, hogy az izotóparány-elemzés a gyümölcslé-vizsgálat új módszerei között különlegesen fontos. Különösen az „intermolekuláris izotópok standard módszere”, mely a gyümölcs különböző vegyületsorozatjainak széntartalmú vegyületeit hasonlítja össze, kínál igen értékes lehetőséget az eredetelemzésre. Mindazonáltal az eredmények korrekt értelmezéséhez nagy adatbázissal kell rendelkezni. Csak így lehet a regionális és szezonális különbségeket a hamisítástól biztonságosan megkülönböztetni.

Irodalom

1. A.I.J.N. Code of Practice for the evaluation of fruit and vegetable juices. A.I.J.N. Brüsszel, 1997
2. RSK-Werte - Die Gesamtdarstellung, verlag Füllsig. Obst GmbH, 1. Auflage, 1987
3. H.-L. Schmidt, A. Rossmann, R. A. Werner: „Stable Isotope Ratio Analysis in Quality Control of Flavourings” in „Flavourings”, eds. E. Ziegler, H. Ziegler, Wiley-VCH
4. J. A. Berry: Studies of Mechanisms Affecting the Fractionation of Carbon Isotopes in Photosynthesis in „Stable Isotopes In Ecological Research”, eds. P. W. Rundel, J.R. Ehleninger, K. A. Nagy. Springer Verlag, New York, 1989, 82-94.
5. G.E. Krammer, I. Gatfield, M. Guentert, J-M. Hilmer, C.O. Schmidt, H. Sommer, P. Wekhoff, J. Koulen: Understanding flavors using isotopic patterns in „Frontiers of flavour science”, eds. P. Schreier, K-H. Engel, Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Garching, 2000, 111-116
6. C.O.Schmidt, I. Gatfield, J.-M. Hilmer, P. Werkhoff, G. Krammer, H. Sommer, K. Herbrand, L. Meier, H-J. Bertram: Perfumes and Flavourings **26** (2001), 8-14
7. Eurpópische Vornorm DN V ENV 12140, 1996. december
8. E. Jamin, J. González, I. Bengoechea, G. Kerneur, G. Remaud, C. Iriundo, G. G. Martin, J. Agric. Food Chem., **46** (1998), 5118-5123
9. E. Jamin, J. Gonzalez, J. Remaud, N. Naulet, G.G. Martin, J. Agric. Food Chem. **45** (1997), 3961-3967
10. J. González, E. Jamin, G. Remaud, Y-L. Martin, G.G. Martin, M.L. Martin, J. Agric Food Chem. **46** (1998): 2200-2205
11. J.Koziet, A.Rossmann., G.J.Martin, P.R.Ashurst, Anal. Chim. Acta, **271** (1993), 31-38
12. A. Rossmann, W. Rieth, H.-L. Schmidte, Z. Lebensm. Unters. Forsch. **191** (1990) 259-264
13. W.A. Simpkins, G.Patel, M. Harrison, D. Goldberg, Food Chem., **70** (2000), 385-390
14. A. Rossmann, J. Koziet, G.J. Martin, M.J. Dennis, Anal. Chim. Acta, **340** (1997) 21-29
15. E. Hjamin, J. González, I. Bengoechea, G.Kerneur, G. remaud, N. Naulet, G.G.Martin, J.AOAC Int. **81** (1998) 604-609
16. G.G. Martin, Y.-L. Martin, N. Naulet, H.J.D. McManus, J.Agric. Food Chem. **44** (1996) 3206-3213
17. Europäische Vornorm DN V BNV 12141, 1996. december