

УДК 638.166:543.4

Мельник О. П.,

ksaname@gmail.com, ORCID ID: 0000-0002-9177-8904,

Researcher ID: D-8608-2019,

к.х.н., доцент, доцент кафедри експертизи харчових продуктів,

Національний університет харчових технологій, м. Київ

Маринін А. І.,

andrii_marynin@ukr.net. ORCID ID: 0000-0001-6692-7472

Researcher ID: M-5292-2018,

к.т.н., с.н.с., доцент, завідувач Проблемної науково-дослідної лабораторії,

Національний університет харчових технологій, м. Київ

Шевченко О. Ю.,

tmipt@ukr.net, ORCID ID: 0000-0002-8818-2667

Researcher ID: GVV-7406-2022,

д.т.н., професор, ректор

Національний університет харчових технологій, м. Київ

Літвинчук С. І.,

litvynchuk@nufi.edu.ua, ORCID ID: 0000-0002-5580-3826

Researcher ID: T-2607-2018

к.т.н., доцент, завідувач кафедри фізики,

Національний університет харчових технологій, м. Київ

Святненко Р. С.,

svyatnenko77@ukr.net, ORCID ID: 0000-0003-0895-6982

Researcher ID: HPE-0052-2023,

к.т.н., старший науковий співробітник,

Проблемна науково-дослідна лабораторія, м. Київ

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ ЯМР-СПЕКТРОСКОПІЇ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ТА ФАЛЬСИФІКАЦІЇ МЕДУ

Анотація. У статті розглядаються питання ідентифікації та фальсифікації меду методом ЯМР-спектроскопії. Мед – натуральна солодка речовина, що виробляється *Apis mellifera*. Він складається в основному з різних цукрів, переважно фруктози та глюкози, а також інших речовин, таких як органічні кислоти, ферменти та тверді частинки, отримані під час медозбору. Основною хімічною складовою меду є вуглеводи, які складають до 95% сухої ваги, причому фруктоза (38%) і менша частина глюкози (31%) є основними цукровими компонентами серед 22 різних цукрів, присутніх у складі меду.

Географічне та ботанічне походження є факторами, які диктують ціну на цей широко споживаний натуральний продукт. Економічна вигода призвела до того, що мед став легкою мішенню для фальсифікації, включаючи навмисне неправильне маркування походження меду, додавання води та цукру до меду, а також годування бджіл надмірною кількістю штучного сиропу в період збору нектару. Таким чином, ідентифікація меду є нагальною проблемою.

Методології ядерного магнітного резонансу (ЯМР) широко визнані як важливий інструмент для аналізу харчових продуктів, оскільки вони дозволяють вивчати як хімічний склад, так і молекулярну динаміку харчових матриць.

Мед є дуже лабільною системою, що піддається біохімічним і хімічним змінам, а ЯМР-спектроскопія є потужним методом для моніторингу цих змін.

ЯМР-спектроскопія має низку переваг порівняно з іншими аналітичними методами: вона швидка (для отримання спектру ЯМР ^1H потрібно <5 хв); не потребує калібрування за допомогою міжнародних стандартів або екстракції компонентів перед проведенням аналізу; демонструє чудову селективність і дозволяє ідентифікувати невідомі сполуки на молекулярному рівні. Однією з головних переваг цього методу є його здатність надавати структурну і кількісну інформацію про широкий спектр хімічних видів в одному ЯМР-експерименті з відмінною повторюваністю і відтворюваністю.

Ключові слова: мед, ідентифікація, фальсифікація, ЯМР-спектроскопія.

Melnyk O. P.,

ksaname@gmail.com, ORCID ID: 0000-0002-9177-8904

Researcher ID: D-8608-2019,

*Ph.D., As. Professor, Associate Professor of the Department of Foodstuff Expertise,
National University of Food Technologies, Kyiv*

Marynin A. I.,

andrii_marynin@ukr.net, ORCID ID: 0000-0001-6692-7472

ResearcherID: M-5292-2018,

*Ph.D., Associate Professor, Head of Laboratory
National University of Food Technologies, Kyiv*

Shevchenko O. Yu.,

tmipt@ukr.net, ORCID ID: 0000-0002-8818-2667

Researcher ID: GVV-7406-2022,

*Doctor of Engineering, Professor, Rector
National University of Food Technologies, Kyiv*

Litynychuk S. I.,

litvynchuk@mft.edu.ua, ORCID ID: 0000-0002-5580-3826

Researcher ID: T-2607-2018

*Ph.D., Associate Professor, Head of the Department of Physics
National University of Food Technologies, Kyiv*

Svyatnenko R. S.,

svyatnenko77@ukr.net, ORCID ID: 0000-0003-0895-6982

Researcher ID: HPE-0052-2023,

*Ph.D., Researcher, Problem Research Laboratory
National University of Food Technologies, Kyiv*

USING THE NMR SPECTROSCOPY METHOD TO STUDY THE IDENTIFICATION AND ADULTERATION OF HONEY

Abstract. *The article deals with the issues of identification and falsification of honey by NMR spectroscopy. Honey is a natural sweet substance produced by *Apis mellifera*. It consists mainly of various sugars, mainly fructose and glucose, as well as other substances such as organic acids, enzymes and particulate matter obtained during honey harvesting. The main chemical constituent of honey is carbohydrates, which make up up to 95% of the dry weight, with fructose (38%) and a smaller portion of glucose (31%) being the main sugar components among the 22 different sugars present in honey.*

Geographical and botanical origin are factors that dictate the price of this widely consumed natural product. The economic benefits have made honey an easy target for adulteration, including deliberate mislabeling of honey origin, adding water and sugar to honey, and feeding bees excessive amounts of artificial syrup during the nectar collection period. Thus, honey identification is an urgent problem.

Nuclear magnetic resonance (NMR) techniques are widely recognized as an important tool for food analysis, as they allow us to study both the chemical composition and molecular dynamics of food matrices.

Honey is a highly labile system that undergoes biochemical and chemical changes, and NMR spectroscopy is a powerful technique for monitoring these changes.

NMR spectroscopy has a number of advantages over other analytical methods: it is fast (<5 min to obtain a ¹H NMR spectrum); does not require calibration with international standards or extraction of components before analysis; demonstrates excellent selectivity and allows identification of unknown compounds at the molecular level. One of the main advantages of this method is its ability to provide structural and quantitative information on a wide range of chemical species in a single NMR experiment with excellent repeatability and reproducibility.

Key words: honey, identification, adulteration, NMR spectroscopy.

JEL Classification: C 89, L 15

DOI 10.32782/2522-1221-2023-34-03

Постановка проблеми. Мед – це природна солодка речовина, що виробляється медоносними бджолами і складається з декількох видів цукрів, органічних кислот, амінокислот, ферментів і мінералів.

Загалом, якість меду та його хімічний склад пов'язані з багатьма факторами, такими як географічне, ботанічне або рослинне походження, кліматичні, сезонні та ботанічні фактори, фактори навколишнього середовища, методи збору меду бджолярами, правильне маркування меду, умови зберігання [1-6]. З точки зору забезпечення якості, ці фактори є важливими для виробників меду, споживачів, харчової промисловості та регуляторних органів.

Зростання комерційного попиту на мед у всьому світі призвело до зростання цін на медові продукти, що спричинило шахрайську фальсифікацію натурального меду [7-9]. Тому бджільництво та промислове виробництво меду потребують більш суворих заходів контролю якості для того, щоб забезпечити споживачів якісною та безпечною продукцією.

Існує значна кількість аналітичних хімічних інструментів для перевірки автентичності меду [8, 10, 11]. Застосування ЯМР-спектроскопії для аналізу меду має ряд переваг, включаючи доступність інформації про цей продукт в одному вимірюванні, що є відносно швидшим за більшість аналітичних методів з точки зору часу виконання та обробки, відтворюваність та порівнянність даних з високим рівнем статистичної достовірності, відсутність необхідності попередньої обробки зразків, ретроспективна ідентифікація та кількісне визначення зразків [3, 11-15].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Хімічний склад меду змінюється залежно від його географічного походження, тому на сьогоднішній день дослідження в основному зосереджені на вивченні природних фізико-хімічних

параметрів для встановлення джерела квіткового меду та його походження [1, 16, 17]. Часто використовуваним методом перевірки автентичності меду є мелісопалінологія [18, 19]. З іншого боку, дослідження також показали, що мед різного географічного походження можна класифікувати на основі відмінностей у співвідношенні амінокислот [9, 20, 21]. Проблема полягає в тому, що необхідно враховувати реакцію Майяра, оскільки зміни амінокислотного складу меду відбуваються під час зберігання [2, 22, 23], що робить такий параметр не ідеальним для ідентифікації. Автори [24, 25] досліджували вторинні метаболіти, як от фенольні сполуки, які можуть слугувати можливими маркерами географічної ідентифікації меду.

Авторами [26] використано ¹H та ¹³C ЯМР-спектроскопію для вирішення проблем, пов'язаних з визначенням ботанічного та географічного походження 328 зразків меду та кількісного визначення окремих компонентів меду.

В роботі [27] з метою ідентифікації та класифікації зразків меду на основі схожості або відмінності їх хімічного складу ¹H ЯМР-спектри сигналів між значеннями хімічних зсувів (δ) 10.5...0 ppm були розділені на різні області: 9.60...7.20; 5.30...3.20; 3.0...1.50; 1.50...0.75, зона 4.70...5.00 ppm була виключена для того, щоб позбутися піку залишкової води. ¹H ЯМР профілювання різних областей хімічних зсувів чітко показало, що кожен мед має діагностичний відбиток зі специфічними хімічними маркерами, які можуть бути використані для ідентифікації, виявлення фальсифікації та, зрештою, для контролю якості.

У дослідженні [7] було використано ¹H ЯМР-спектроскопію низьких частот для розрізнення чистого квітового меду від меду, фальсифікованого кукурудзяним сиропом з високим вмістом фруктози. Встановлено, що на час релаксації протонів суттєво впливає концентрація фальсифікату в чистому меді, зменшуючись при вищих

концентраціях фруктозного сиропу. Виявлено значні кореляції між часом релаксації та фізико-хімічними параметрами меду (рН, активністю води та вмістом вологи).

У статті [28] авторами розділено ^1H спектри меду на три області: аліфатичну (0.00...3.00 ppm), вуглеводну (3.00...6.00 ppm) та ароматичну (6.00...9.50 ppm), щоб дослідити, яка область забезпечує найкращі якісні та кількісні показники з точки зору фальсифікації ріпакового меду в акацієвому меді. На основі сполук, розташованих у спектральному діапазоні 0.00...6.00 ppm встановлено найвищу точність прогнозування додавання ріпакового меду, що становить 89,7%.

В роботі [29, 30] визначено аналітичні критерії для перевірки автентичності моно- та мультіквіткового меду мануки. Мед, який походить з дерев манука, має дуже специфічну антимікробну активність, відрізняється від інших квіткових видів наявністю великої кількості метилгліюксалу, який є молекулою, що відповідає за сильну антисептичну властивість цього меду, і його попередника в нектарі, дигідроксиацетону. Метилгліюксаль може бути ефективно кількісно визначений за допомогою ^1H -ЯМР. Ці два маркери є хорошими критеріями ЯМР-автентичності, щоб переконатися, що мед манука відповідає маркуванню.

Авторами [17] досліджено сортові меди (грецький, конюшиний, кульбабовий, вересовий, гімалайський бальзамічний, падевий, липовий, брусничний, багатоквітковий). За допомогою ЯМР-профілювання виявило 2-гідрокси-3-метилмасляну, 2-гідрокси-3-метилпентанову, 3-метил-2-оксопентанову та 4-метил-2-оксопентанову кислоти як специфічні маркери для меду кульбаби.

У грецького меду виявлено високий вміст амінокислот ізолейцину, лейцину, треоніну, тирозину, валіну та 4-гідроксибензойну кислоти. Фенілаланін і тирозин також вважаються маркерами лавандового меду.

Окрім мелезитози та трегалози, було знайдено відмінні маркери падевого меду з аліфатичної та ароматичної областей. Падевий мед характеризується наявністю фумарової, молочної, яблучної та бурштинової кислот, а також присутності аспарагінової кислоти на рівнях, які можна виявити. Конюшиний мед не містить жодних явних характерних маркерів, але вирізняється низьким вмістом глюкози. Виявлено маркер липового меду – 1-О- β -гентіобіозил (6-О-(β -D-глюкопіранозил)- β -D-глюкопіранозил) ефір

4-(1-гідрокси-1-метилетил)циклогекса-1,3-дієн-1-карбонової кислоти, гентіобіоза також присутня в липовому меді.

Вересовий мед містить ароматичні карбонові кислоти, а саме бензойну, 3-фенілоцтову та фенілоцтову кислоти, які сприяють формуванню ароматичного профілю та медоподібного запаху. 3-феніломолочна кислота може бути причиною високої антимікробної активності вересового меду.

У роботі [31] продемонстровано комбіноване застосування ЯМР-спектроскопії та керованих моделей машинного навчання для автоматичної ідентифікації різних фальсифікатів у зразках меду. Використовуючи 90% навчальних і 10% тестових даних, експериментальні спектри зразків меду піддаються трьом типам алгоритмів класифікації: класифікатору логістичної регресії, класифікатору глибоких нейронних мереж і класифікатору з підсиленням легкого градієнта. Щоб зменшити похибку, пов'язану з розділенням навчальних і тестових наборів даних, вся перехресна перевірка і прогнози на трьох класифікаторах повторюються 50 разів. Нарешті, обчислюється середня оцінка перехресної перевірки і точності, що дає значення, близькі до 1,0 і 100%, відповідно. Контрольоване машинне навчання та інструменти глибокого навчання виявляють різні види фальсифікації, такі як фальсифікація інвертним цукром та додавання суміші цукрових сиропів до меду.

У роботі [32] досліджено рухливість молекул води в меді на молекулярному рівні за допомогою релаксометрії ядерного магнітного резонансу. Встановлено, що в меді є дві фракції молекул води: зв'язана вода та вільна (об'ємна) вода. Коефіцієнт дифузії фракції зв'язаної води приблизно в 1000 разів нижчий порівняно з об'ємною водою. Однак, незважаючи на те, що процес дифузії значно сповільнюється, він залишається тривимірним (ізотропним).

В останні роки застосування ЯМР-спектроскопії зробило дуже значний внесок у науку метаболоміки [33]. Використання метаболомічного аналізу для вирішення складних питань, пов'язаних з фальсифікацією та ідентифікацією меду, включаючи географічне походження, зрілість, значно зросло протягом останніх десятиліть.

Авторами [34] проведена верифікація географічного походження 118 зразків меду з французького острова Корсика за допомогою статистичної моделі ЯМР ^1H . Ця модель, побудована

з використанням комбінації PLS-DA (Partial Least Squares Discriminant Analysis – частковий дискримінантний аналіз методом найменших квадратів) і генетичного алгоритму, змогла правильно ідентифікувати зразки меду як такі, що походять з Корсики (загалом, правильна класифікація за допомогою перехресної валідації моделі склала 96,2%). Подальше дослідження, що об'єднало дані експериментів другого року дослідження, вивчило змінні, використані в новому алгоритмі класифікації, і визначило кілька біомаркерів, які були присутні в певних квіткових типах меду, наприклад, кінуренова кислота була визначена генетичним алгоритмом як непрямий маркер географічного походження [35].

Постановка завдання. Метою статті є аналіз використання методу ЯМР-спектроскопії при дослідженні ідентифікації та фальсифікації меду різного географічного та ботанічного походження.

В роботі використано методи аналізу, синтезу та узагальнення інформації з різних наукових джерел для формування цілісного уявлення використання методу ЯМР-спектроскопії для дослідження меду. Методи аналізу та синтезу взаємопов'язані. При підготовці статті після виконання аналітичної роботи, виникла потреба у синтезі, інтеграції результатів аналізу. Інформаційною базою дослідження були роботи вітчизняних та закордонних вчених.

Виклад основного матеріалу дослідження. В основі методу спектроскопії ядерного магнітного резонансу лежить явище поглинання радіочастотної енергії системою магнітних ядер [36-38]. Протони і нейтрони із яких складаються ядра атомів, володіють спіном. У зовнішньому магнітному полі B_0 ядра зі спіном I , відмінним від нуля, орієнтуються дискретним способом так, що проекція спіну на напрямок поля (m) приймає $2I+1$ значень ($m = I, I-1, -I$). Це призводить до розщеплення енергетичного рівня спіна I на $2I+1$ підрівнів. Різниця енергій між підрівнями визначається співвідношенням

$$E_m = -\hbar m \gamma B_0, \quad (1)$$

де $\hbar = h/2\pi$ – приведена стала Планка, γ – гіромагнітне відношення.

В методі ЯМР накладенням додаткового високочастотного поля B_1 з коловою частотою ω досліджують переходи між даними підрівнями. При цьому резонансне поглинання енергії відбувається за умови:

$$\omega_0 = \gamma B_0, \quad (2)$$

Формула (2) описує загальну умову ЯМР. Однак локальне магнітне поле в точці розміщення ядра зі спіном I відрізняється від поля B_0 , що створюється магнітом ЯМР-спектрометра. Це пов'язано з магнітним екрануванням ядра електронної оболонки атома і локальними магнітними полями, які утворюють як функціональні групи досліджуваної молекули, так і поруч розташовані молекули середовища. Відмінність магнітного поля в точці розміщення ядра від поля ЯМР-спектрометра називається сталою магнітного екранування.

Щоб охарактеризувати величину магнітного екранування конкретного ядра, використовують величину хімічного зсуву, яким називають різницю між сталою екранування еталонної (σ_1) і досліджуваної (σ) речовини. Хімічний зсув вимірюють в мільйонних долях (м.д. або ppm) величини магнітного поля ЯМР – спектрометра:

$$\delta = (\sigma_1 - \sigma) \text{ [м.д.]} \quad (3)$$

Стала магнітного екранування визначається двома вкладками – діаманітним і парамагнітним: $\sigma = \sigma_d + \sigma_p$. Для ізольованого атома в 1s-стані парамагнітний вклад дорівнює нулю, а діаманітний визначається співвідношенням:

$$\sigma = \frac{\mu_0 e^2}{4\pi 3 m_e c^2} \int r^{-1} \rho(r) d^3 r, \quad (4)$$

де μ_0 – магнітна стала, m_e – маса електрона, e – заряд електрона, $\rho(r)$ – густина електронів на відстані r від ядра, c – швидкість світла.

Для розрахунку хімічного зсуву протонного резонансу в якості еталонної речовини використовують тетраметилсилан (ТМС), хімічний зсув якого умовно дорівнює 0 м.д.

sp^3 -гібридація орбіталей вуглецевого атома і відсутність в молекулі ТМС електронодонорних груп обумовлює низький заряд на атомах водню. Тому для більшості органічних сполук, атоми водню яких мають більш позитивні заряди, ніж у ТМС, сигнал протонів спостерігається в більш слабких полях, ніж у випадку ТМС.

Величина хімічного зсуву залежить також від участі молекули в міжмолекулярних взаємодіях (оскільки відбувається поляризація молекул і змінюються заряди на атомах). Один із типів таких взаємодій, що сильно впливає на величину хімічного зсуву Н-атомів, – водневі зв'язки. Утворення водневих зв'язків призводить до зменшення електронної густини на атомі водню, що приймає участь у даному процесі і, як наслідок, до росту величини хімічного зсуву цього атома (тобто від-

бувається додаткове зміщення сигналу в сторону слабких магнітних полів) (рис. 1).

Якщо для ізольованої молекули величина σ практично не залежить від тиску і температури [38, 39], то для воднево-зв'язуючих комплексів така залежність існує. Це пов'язано з тим, що з підвищенням температури деяка частина водневих зв'язків розкривається і середня їх довжина збільшується, що у свою чергу, дає підвищення електронної густини на атомах водню, і сигнал протонів зміщується в сторону сильних магнітних полів. Для пояснення температурної залежності хімічного зсуву як правило використовують модель двох станів [36, 38], а тому хімічний зсув можна записати у вигляді:

$$\delta_H(T) = (1 - P_F)\delta_H + P_F\delta_F, \quad (5)$$

де P_F – доля зруйнованих водневих зв'язків, δ_H, δ_F – хімічні зсуви протонів, що приймають

і не приймають участь в утворенні водневих зв'язків.

Пряма дія магнітних полів ядер атомів одного на одне дуже мала, оскільки ці поля швидко зменшують свою напруженість з відстанню. Але електрони, які здійснюють хімічний зв'язок атомів у молекулі і які рухаються за орбітами, при орієнтації в полі одного ядра, діють і на друге. Таким чином, відбувається спин-спінова взаємодія ядер атомів, які входять до складу молекули.

Хімічні зсуви в ^{13}C -ЯМР подібні до ^1H -ЯМР, їх діапазон лежить в межах від 0 до 200 ppm і, отже, поширюється на в 20 разів більший діапазон, ніж ^1H -ЯМР (0-12 ppm) (рис. 2).

Наявність атомів карбону у ^{13}C -спектрах дає інформацію про вуглецевий скелет органічної молекули.

Стан гібридизації вуглецю має значний вплив на сигнали ЯМР ^{13}C , подібно до сигналів

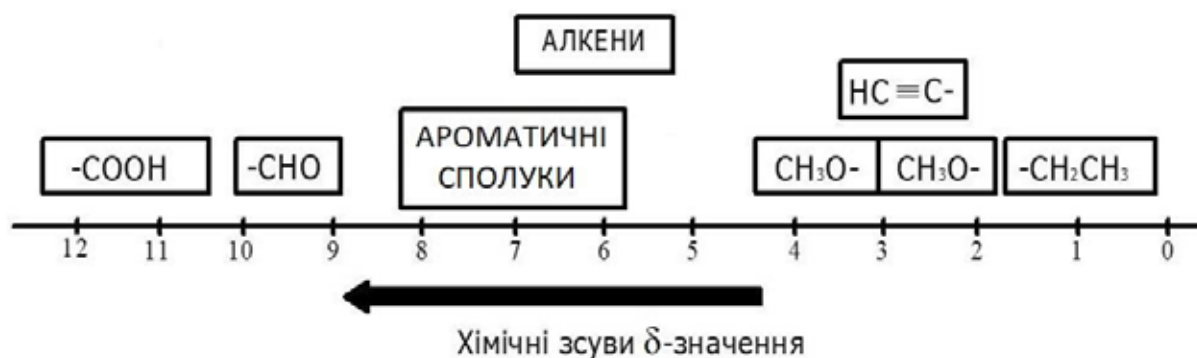


Рис. 1. ^1H -ЯМР хімічні зсуви (δ -значення) сполук з функціональними групами

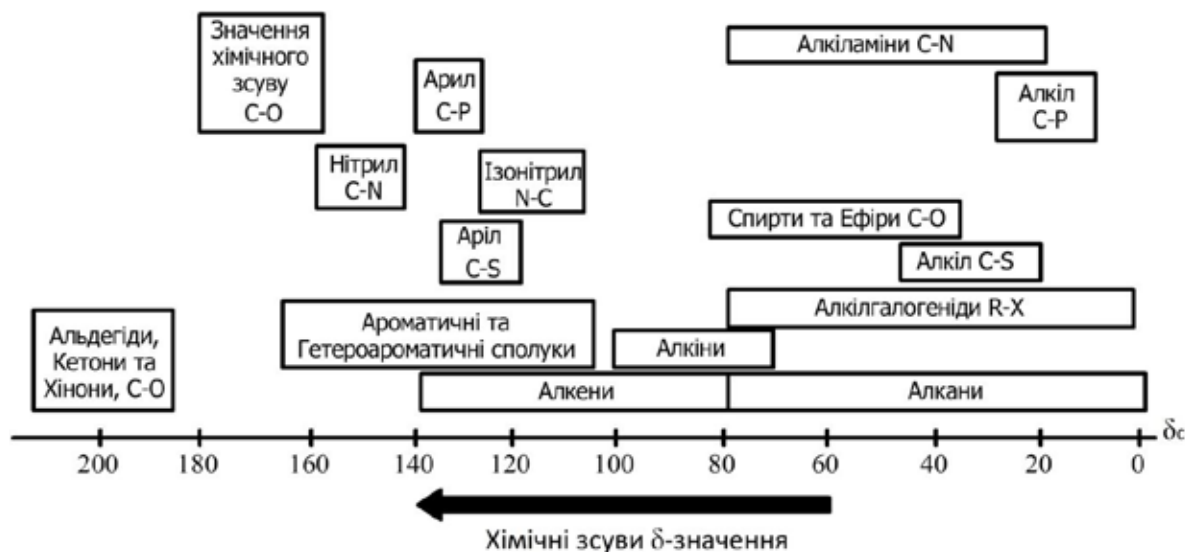


Рис. 2. ^{13}C -ЯМР хімічні зсуви сполук з функціональними групами

ЯМР ^1H , і може бути проаналізований згідно табл. 1.

Таблиця 1

Ефект гібридизації

Стан гібридизації	δ -діапазон (ppm)
sp^3 – carbon	0...60
sp^2 – carbon	80...200
sp – carbon	65...90

Релаксація спінів. Вплив радіочастотного імпульсу на зразок харчового продукту, що перебуває в стані теплової рівноваги, переводить ядерні спіни в збуджений стан. Релаксаційні процеси дозволяють ядерним спінам повернутися до рівноваги після втручання радіочастотного імпульсу. Часи релаксації T_1 і T_2 характеризують релаксацію поздовжньої і поперечної компонент намагніченості, відповідно, паралельної і перпендикулярної до B_0 . Енергія, що втрачається спінами, поширюється в середовищі, що оточує спіни, у вигляді тепла. Однак зміна температури при цьому є настільки малою, що не може бути зафіксована. Даний процес називають ще спін-решітковою релаксацією.

Для повної релаксації спінів після впливу 90° імпульсу, необхідно витримати інтервал $5T_1$ (намагніченість при цьому відновиться на 99,33%).

Якщо два однакових магнітних ядра, що входять, наприклад, у сусідні молекули чи кристалічні ґратки, знаходяться поруч, то вони перебувають у змінних магнітних полях, створюваних спіном сусіднього ядра. Якщо в цьому випадку частоти прецесії ядер і магнітних полів збігаються, тоді виконуються умови для ще одного виду резонансу, який є спін-спіновою релаксацією. Отже, спін-спінова релаксація – явище обміну енергією між двома однаковими спіновими системами, що знаходяться якийсь час поруч та характеризується константою T_2 .

Для більшості ядер зі спіном $1/2$, що містяться у молекулах, які швидко рухаються, T_1 і T_2 мають однакові величини. Для великих молекул з повільним рухом у розчинах T_2 у більшості випадків набагато менші за T_1 .

Релаксація приводить до того, що сигнали мають вигляд лінії (рис. 3), напівширина якої описується рівнянням:

$$\Delta\nu_{1/2} = \frac{1}{\eta \cdot T_2} \quad (6)$$

Принципи реєстрації сигналу ЯМР. Сучасні спектрометри ЯМР призначено для роботи на

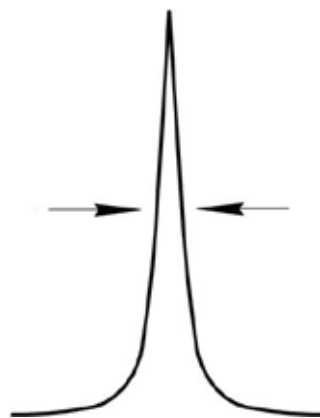


Рис. 3. Визначення ширини сигналу на половині його висоти

різних ядрах, що досягається зміною діапазону частот, які генеруються [40]. У разі імпульсного методу на речовину впливають серією коротких імпульсів тривалістю $\sim 10^{-6}$ с, що чергуються з паузами в 2 с (рис. 4).

При цьому монохроматичне випромінювання, за частотою близьке до частоти резонансу, за допомогою Фур'є перетворення перетворюється на поліхроматичне з діапазоном Δ , що перекидає частоти резонансу усіх ядер принаймні одного елемента, завдяки чому усі ці ядра збуджуються. Під час паузи система ядер повертається до рівноважного стану і відбувається випромінювання надлишку енергії (спад вільної індукції – СВІ), що й уловлюється приймальною котушкою та багаторазово записується в пам'яті комп'ютера, накопичуючись завдяки повторюваним імпульсам. Потім накопичений сигнал СВІ методом Фур'є перетворюється на звичайний сигнал (рис. 5).

Висновки і перспективи подальших досліджень у даному напрямі.

В роботі проаналізовано використання методу ЯМР-спектроскопії для дослідження багатьох параметрів при ідентифікації меду. ЯМР – спектроскопічний метод, який використовується для визначення молекулярної структури та фізичних властивостей речовин. Завдяки застосуванню спектроскопії з Фур'є перетворенням, появі надпровідних магнітів, прогресу зондової технології та безперервному розвитку високопродуктивних технологій, ЯМР досяг хороших результатів в оцінці та аналізі меду різного ботанічного та географічного походження.

Висока пропускна здатність ЯМР-спектроскопії дозволяє аналітику швидко вимірювати велику кількість зразків меду. Весь

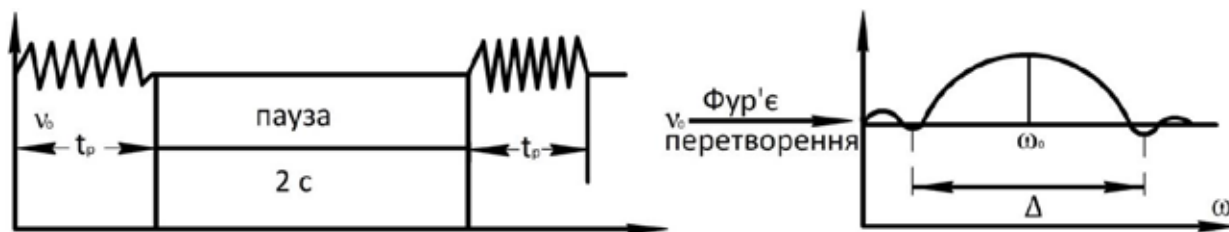


Рис. 4. Багатоімпульсна послідовність накопичення сигналу спаду вільної індукції



Рис. 5. Сигнал спаду вільної індукції та отриманий спектр ^1H ЯМР з Фур'є-перетворенням.

спектр можна виміряти з високою відтворюваністю, навіть між лабораторіями. Це можливо завдяки точним стандартним операційним процедурам підготовки зразків і новим технологічним розробкам, які мінімізують варіабельність між лабораторіями.

Потенціал ЯМР полягає не тільки у вимірюванні основних сигналів, але й у тому, щоб зробити це без впливу спектральних артефактів і невідповідностей, таких як електричний шум, різниця в ширині піків і модифікація хімічного зсуву.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Consonniand, R. Cagliani, L.R. Geographical characterization of polyfloral and acacia honeys by nuclear magnetic resonance and chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008. Vol. 56, No 16. P. 6873–6880.
2. Missio da Silva P., Gauche C., Gonzaga L.V., Costa A.C.O., Fett R. Honey: chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*. 2016. Vol. 196. P. 309–323.
3. Rutledge D.N. Fast and global authenticity screening of honey using ^1H -NMR profiling. *Food Chemistry*. 2015. Vol. 189. P. 60–66.
4. Zak N. Honey market in the opinion of young consumers. *Handel wewnętrzny*. 2017. Vol.1. No. 366. P. 424–438.
5. Spiteri C., Lia F., Farrugia C. Determination of the Geographical Origin of Maltese Honey Using ^1H NMR Fingerprinting. *Foods*. 2020. Vol. 9. N.10. P. 1455. <https://doi.org/10.3390/foods9101455>
6. Won S.R., Lee D.C., Ko S.H., Kim J.W., Rhee H.I. Honey major protein characterization and its application to adulteration detection. *Food Research International*. 2008. Vol. 41. No 10. P. 952–956.
7. Ribeiro R. R., Mársico E. T., Carneiro C., Guerra Monteiro M.L., Júnior C.C., Oliveira de Jesus E.F. Detection of honey adulteration of high fructose corn syrup by Low Field Nuclear Magnetic Resonance (LF ^1H NMR). *Journal of Food Engineering*. 2014. Vol. 135. P. 39–43 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.03.009>
8. Zhang G., Abdulla W. On honey authentication and adulterant detection techniques. *Food Control*. 2022. 138. 108992. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108992>
9. Bogdanov S., Ruoff K., Oddo L.P. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: A review. *Apidologie*. 2004. Vol. 35. P. 4–17.
10. Ruiz-Matute A.I., Brokl M., Soria A.C., Sanz M.L., Martinez-Castro I. Gas chromatographic-mass spectrometric characterisation of tri- and tetrasaccharides in honey. *Food Chemistry*. 2010. Vol. 120. No 2. P. 637–642.
11. Zabrodska B., Vorlova L. (2014). Adulteration of honey and available methods for detection – a review. *Acta Vet*. 2014. Vol. 83. P. 85–102. <https://doi.org/10.2754/avb201483S10S85>

12. Tian Y., He Q., Chen X., Wang S. Nuclear magnetic resonance spectroscopy for food quality evaluation. *Evaluation Technologies for Food Quality*. 2019. P. 193-217. doi.org/10.1016/B978-0-12-814217-2.00011-1
13. Kuballa T., Brunner T.S., Thongpanchang T., Walch S.G., Lachenmeier D.W. Application of NMR for authentication of honey, beer and spices. *Current Opinion in Food Science*. 2018. Vol. 19. P. 57-62. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.007
14. Jamroz M.K., Paradowska K., Zawada K., Makarova K., Kazmierski S., Wawer I. ¹H- and ¹³C-NMR-based sugar profiling with chemometric analysis and antioxidant activity of herb honeys and honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014. Vol. 94. P. 246–255.
15. Padovan G., Jong D., Rodrigues L., Marchini J. Detection of adulteration of commercial honey samples by the ¹³C/¹²C isotopic ratio. *Food Chemistry*. 2003. Vol. 82. P. 633–636. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00504-6
16. Donarski J. A., Jones S. A., Harrison M., Driffield M., Charlton A. J. Identification of botanical biomarkers found in Corsican honey. *Food Chemistry*. 2010. Vol. 118. No. 4. P. 987–994. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.033
17. Kortensniemi M., Slupsky C. M., Ollikka T., Kauko L., Spevacek A. R., Sjovald O., Yang B., Kallio, H. NMR profiling clarifies the characterization of Finnish honeys of different botanical origins. *Food Research International*. 2016. Vol. 86. P. 83-92. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.05.014
18. Hornby S., Benn J., Vinkenoog R., Goldberg S., Pound M. J. Methods in melissopalynology: colour determination of pollen pellets for colour vision deficient individuals. *Palynology*. 2022. Vol. 46. P.1-7. https://doi.org/10.1080/01916122.2022.2062476
19. Aronne G., De micco V. Traditional melissopalynology integrated by multivariate analysis and sampling methods to improve botanical and geographical characterisation of honeys. *Plant Biosystems*. 2010. Vol. 144. P. 833-840. https://doi.org/10.1080/11263504.2010.514125
20. Schievano E., Peggion E., Mammi S. ¹H nuclear magnetic resonance spectra of chloroform extracts of honey for chemometric determination of its botanical origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010. Vol. 58. No 1. P. 57–65.
21. Kazalaki A., Misiak M., Spyros A., Dais P. Identification and quantitative determination of carbohydrate molecules in Greek honey by employing ¹³C NMR spectroscopy. *Anal. Methods*. 2015. Vol. 7. P. 5962–5972.
22. Sereia M.J., Março P.H., Perdoncini M.R.G., Parpinelli R.S., de Lima E.G., Anjo F.A. Techniques for the Evaluation of Physicochemical Quality and Bioactive Compounds in Honey; Anjo, F., Ed.; IN TECH: London, UK, 2017; pp. 194–214.
23. Cagliani L.R., Maestri G., Consonni R. Detection and evaluation of saccharide adulteration in Italian honey by NMR spectroscopy. *Food Control*. 2022. 108574. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108574
24. Schievano E., Morelato E., Facchin C., Mammi S. Characterization of markers of botanical origin and other compounds extracted from unifloral honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2013. Vol. 61. No. 8. P. 1747–1755.
25. Wang X., Chen Y., Hu Y., Zhou J., Chen L., Lu X. Systematic Review of the Characteristic Markers in Honey of Various Botanical, Geographic, and Entomological Origins. *Food Sci. Technol*. 2022. Vol. 2. No. 2. P. 206–220. https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.1c00422
26. Ohmenhaeuser M., Monakhova Y. B., Kuballa T., Lachenmeier D.W. Qualitative and Quantitative Control of Honeys Using NMR Spectroscopy and Chemometrics. *Analytical Chemistry*. 2013. Article ID 825318, http://dx.doi.org/10.1155/2013/825318
27. Olawode E.O., Tandlich R., Cambray G. ¹H-NMR Profiling and Chemometric Analysis of Selected Honeys from South Africa, Zambia, and Slovakia. *Molecules*. 2018. Vol. 23. P. 578. doi:10.3390/molecules23030578
28. Song X., She S., Xin M., Chen L., Li Y., Vander Heyden Y., Rogers K. M., Chen L. Detection of adulteration in Chinese monofloral honey using ¹H nuclear magnetic resonance and chemometrics. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2020. Vol. 86, [103390]. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103390
29. Spiteri M., Jamin E., Thomas F., Rebours A., Lees M., Rogers K. Fast and global authenticity screening of honey using ¹H-NMR profiling. *Food Chemistry*. 2015. Vol. 189. P. 60-66. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.099
30. Deng J., Liu R., Lu Q., Hao P., Xu A., Zhang J., Tan J. Biochemical properties, antibacterial and cellular antioxidant activities of buckwheat honey in comparison to manuka honey. *Food Chemistry*. 2018. Vol. 252. P. 243–249. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.115
31. Rachineni K., Kakita V. M., Awasthi N. P., Shirke V. S., Hosur R. V., Shukla S.C. Identifying type of sugar adulterants in honey: Combined application of NMR spectroscopy and supervised machine learning classification. *Current Research in Food Science*. 2022. Vol. 5. P. 272-277. https://doi.org/10.1016/j.crf.2022.01.008
32. Kruk D., Masiewicz E., Budny J., Kolodziejski K., Zulewska J., Wieczorek Z. Relationship between macroscopic properties of honey and molecular dynamics – temperature effects. *Journal of Food Engineering*. 2022. Vol. 314. 110782 https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110782.
33. Luong D.V., Tam N.Q., Xuan D.T.T., Tai N.T. NMR based metabolomic approach for evaluation

of Vietnamese honey. *Viet. J. Chem.* 2019. Vol. 57. P. 712–716. <https://doi.org/10.1002/vjch.2019000101>

34. Donarski J.A., Jones S.A., Charlton A.J. Application of Cryoprobe ¹H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and Multivariate Analysis for the Verification of Corsican Honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008. Vol. 56. No.14. P. 5451-5456 doi: 10.1021/jf072402x

35. Donarski J. A., Jones S.A., Harrison M., Driffield M., Charlton A.J. Identification of botanical biomarkers found in Corsican honey. *Food Chemistry*. 2010. Vol. 118. No 4. P.987-994. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.10.033

36. Rashid M., Singh S.K., Singh C. Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: Theory and Applications. 2021. P. 469-512. https://doi.org/10.1007/978-981-33-6084-6_18

37. Keeler J. Understanding NMR Spectroscopy. Wiley Interscience, New Jersey, 2010.

38. Lambert J. B., Mazzola E.P., Clark D. Ridge Nuclear magnetic resonance spectroscopy: an introduction to principles, applications, and experimental methods. John Walley&Sons, 2019.

39. Chen D., Wang Zi, Guo Di, Orekhov V., Qu X. Review and Prospect: Deep Learning in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Chemistry. A European Journal*. 2020. Vol. 26. No 46. P. 10391-1040. <https://doi.org/10.1002/chem.202000246>

40. QU Q., JIN L. Application of nuclear magnetic resonance in food analysis *Food Sci. Technol.* 2022. Vol. 42. <https://doi.org/10.1590/fst.43622>.

REFERENCES:

1. Consonniand, R., Cagliani, L.R. (2008). Geographical characterization of polyfloral and acacia honeys by nuclear magnetic resonance and chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (16), 6873–6880.

2. Missio da Silva, P., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Costa, A.C.O., Fett, R., (2016). Honey: chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*. 196, 309–323.

3. Rutledge, D.N., (2015). Fast and global authenticity screening of honey using ¹H-NMR profiling. *Food Chem.*, 189, 60–66.

4. Zak, N. (2017). Honey market in the opinion of young consumers. *Handel wewnętrzny*. 1(366), 424–438.

5. Spiteri, C., Lia, F., Farrugia, C. (2020). Determination of the Geographical Origin of Maltese Honey Using ¹H NMR Fingerprinting. *Foods*, 9 (10), 1455. <https://doi.org/10.3390/foods9101455>

6. Won, S.R., Lee, D.C., Ko, S.H., Kim, J.W., Rhee, H.I. (2008). Honey major protein characterization and its application to adulteration detection. *Food Research International*, 41 (10), 952–956.

7. Ribeiro, R. R., Mársico, E. T., Carneiro, C., Guerra Monteiro, M.L., Júnior, C.C., Oliveira de

Jesus, E.F. (2014). Detection of honey adulteration of high fructose corn syrup by Low Field Nuclear Magnetic Resonance (LF ¹H NMR). *Journal of Food Engineering*, 135, 39–43 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.03.009>

8. Zhang, G., Abdulla, W. (2022). On honey authentication and adulterant detection techniques. *Food Control*, 138. 108992. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108992>

9. Bogdanov, S.; Ruoff, K.; Oddo, L.P. (2004). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: A review. *Apidologie*, 35, 4–17.

10. Ruiz-Matute, A.I., Brokl, M., Soria, A. C., Sanz, M.L., Martinez-Castro, I. (2010). Gas chromatographic-mass spectrometric characterisation of tri- and tetrasaccharides in honey. *Food Chemistry*, 120 (2), 637–642.

11. Zabrodska, B., Vorlova, L. (2014). Adulteration of honey and available methods for detection – a review. *Acta Vet.* 83, 85–102. <https://doi.org/10.2754/avb201483S10S85>

12. Tian, Y., He Q., Chen, X., Wang, S. (2019). Nuclear magnetic resonance spectroscopy for food quality evaluation. *Evaluation Technologies for Food Quality*, 193-217. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814217-2.00011-1>

13. Kuballa, T., Brunner, T.S., Thongpanchang, T., Walch, S.G., Lachenmeier, D.W. (2018). Application of NMR for authentication of honey, beer and spices. *Current Opinion in Food Science*, 19, 57-62. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.007>

14. Jamroz, M.K., Paradowska, K., Zawada, K., Makarova, K., Kazmierski, S., Wawer, I. (2014). ¹H- and ¹³C-NMR-based sugar profiling with chemometric analysis and antioxidant activity of herbhoneys and honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 94, 246–255.

15. Padovan, G., Jong D., Rodrigues L., Marchini J. (2003). Detection of adulteration of commercial honey samples by the ¹³C/¹²C isotopic ratio. *Food Chemistry*, 82, 633–636. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00504-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00504-6)

16. Donarski, J. A., Jones, S. A., Harrison, M., Driffield, M., Charlton, A. J. (2010a). Identification of botanical biomarkers found in Corsican honey. *Food Chemistry*, 118(4), 987–994. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.03>

17. Kortensniemi, M., Slupsky, C. M., Ollikka, T., Kauko, L., Spevacek, A.R., Sjoval, O., Yang, B., Kallio, H. (2016). NMR profiling clarifies the characterization of Finnish honeys of different botanical origins. *Food Research International*, 86, 83-92. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.05.014>

18. Hornby, S., Benn, J., Vinkenoog, R., Goldberg, S., Pound, M. J. (2022). Methods in melissopalynology: colour determination of pollen pellets for colour vision deficient individuals. *Palynology*, 46, 1-7. <https://doi.org/10.1080/01916122.2022.2062476>

19. Aronne, G., De micco, V. (2010). Traditional melissopalynology integrated by multivariate analysis and sampling methods to improve botanical and geographical characterisation of honeys. *Plant Biosystems*, 144, 833-840. <https://doi.org/10.1080/11263504.2010.514125>
20. Schievano, E., Peggion, E., Mammi, S. (2010). ¹H nuclear magnetic resonance spectra of chloroform extracts of honey for chemometric determination of its botanical origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (1), 57–65.
21. Kazalaki, A., Misiak, M., Spyros, A., Dais, P. (2015). Identification and quantitative determination of carbohydrate molecules in Greek honey by employing ¹³C NMR spectroscopy. *Anal. Methods*, 7, 5962–5972.
22. Sereia, M.J., Março, P.H., Perdoncini, M.R.G., Parpinelli, R.S., de Lima, E.G., Anjo, F.A. Techniques for the Evaluation of Physicochemical Quality and Bioactive Compounds in Honey; Anjo, F., Ed.; IN TECH: London, UK, 2017; pp. 194–214.
23. Cagliani, L.R., Maestri, G., Consonni, R. (2022). Detection and evaluation of saccharide adulteration in Italian honey by NMR spectroscopy. *Food Control*, 108574. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108574>
24. Schievano, E., Morelato, E., Facchin, C., Mammi, S. (2013). Characterization of markers of botanical origin and other compounds extracted from unifloral honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(8), 1747–1755.
25. Wang, X., Chen, Y., Hu, Y., Zhou, J., Chen, L., Lu, X. (2022). Systematic Review of the Characteristic Markers in Honey of Various Botanical, Geographic, and Entomological Origins. *Food Sci. Technol.*, 2, 2, 206–220 <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.1c00422>
26. Ohmenhaeuser, M., Monakhova, Y.B., Kuballa, T., Lachenmeier, D.W. (2013). Qualitative and Quantitative Control of Honeys Using NMR Spectroscopy and Chemometrics. *ISRN Analytical Chemistry*. Article ID 825318, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/825318>
27. Olawode, E.O., Tandlich, R., Cambray, G. (2018). ¹H-NMR Profiling and Chemometric Analysis of Selected Honeys from South Africa, Zambia, and Slovakia. *Molecules*, 23, 578. doi:10.3390/molecules23030578
28. Song, X., She, S., Xin, M., Chen, L., Li, Y., Vander Heyden, Y., Rogers, K. M., Chen, L. (2020). Detection of adulteration in Chinese monofloral honey using ¹H nuclear magnetic resonance and chemometrics. *Journal of Food Composition and Analysis*, 86, [103390]. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103390>
29. Spiteri, M., Jamin, E., Thomas, F., Rebours, A., Lees, M., Rogers, K. (2015). Fast and global authenticity screening of honey using ¹H-NMR profiling. *Food Chemistry*, 189, 60-66. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.099>
30. Deng, J., Liu, R., Lu, Q., Hao, P., Xu, A., Zhang, J., Tan, J. (2018). Biochemical properties, antibacterial and cellular antioxidant activities of buckwheat honey in comparison to manuka honey. *Food Chemistry*, 252, 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.115>
31. Rachineni, K., Kakita, V. M., Awasthi, N. P., Shirke, V. S., Hosur, R. V., Shukla, S.C. (2022). Identifying type of sugar adulterants in honey: Combined application of NMR spectroscopy and supervised machine learning classification. *Current Research in Food Science*, 5, 272-277. <https://doi.org/10.1016/j.crf.2022.01.008>
32. Kruk, D., Masiewicz, E., Budny, J., Kolodziejcki, K., Zulewska, J., Wiczorek, Z. (2022). Relationship between macroscopic properties of honey and molecular dynamics – temperature effects. *Journal of Food Engineering*, 314. 110782 <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110782>.
33. Luong, D.V., Tam, N.Q., Xuan, D.T.T., Tai, N.T. (2019). NMR based metabolomic approach for evaluation of Vietnamese honey. *Viet. J. Chem.*, 57, 712–716. <https://doi.org/10.1002/vjch.2019000101>
34. Donarski, J. A., Jones, S.A., Charlton, A.J. (2008). Application of Cryoprobe ¹H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and Multivariate Analysis for the Verification of Corsican Honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 14, 5451-5456 doi: 10.1021/jf072402x
35. Donarski, J. A., Jones, S.A., Harrison, M., Driffield, M., Charlton, A.J. (2010). Identification of botanical biomarkers found in Corsican honey. *Food Chemistry*, 118 (4),987-994. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.10.033
36. Rashid, M., Singh, S.K., Singh, C. Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: Theory and Applications. 2021. P. 469-512. https://doi.org/10.1007/978-981-33-6084-6_18
37. Keeler, J. Understanding NMR Spectroscopy. Wiley Interscience, New Jersey, 2010.
38. Lambert, J. B., Mazzola, E.P., Ridge, C.D. Nuclear magnetic resonance spectroscopy: an introduction to principles, applications, and experimental methods. John Walley&Sons, 2019.
39. Chen, D., Wang, Z., Guo, D., Orekhov, V., Qu, X. (2020). Review and Prospect: Deep Learning in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Chemistry. A European Journal*, 26 (46), 10391-1040 <https://doi.org/10.1002/chem.202000246>
40. Qu, Q., Jin, L. (2022). Application of nuclear magnetic resonance in food analysis *Food Sci. Technol*, 42 <https://doi.org/10.1590/fst.43622>

Стаття надійшла до редакції 22 травня 2023 року