

Chemiczne sekrety miodu

Żaneta Bargańska, Barbara Kusznerowicz, Maciej Kujawski, Marek Ślebioda,
Jacek Namieśnik





Wydział Chemiczny
Politechnika Gdańska
ul. Gabriela Narutowicza 11/12
80-233 Gdańsk
Tel.: +48 58 347-10-10
e-mail: chemanal@pg.gda.pl

Ślesin, 15-18.05.2011 r.



Miód

Powstaje z:

- nektaru roślin kwiatowych i/lub
- spadzi

Słodka, lepka ciecz pojawiająca się na liściach, gałązkach drzew lub krzewów. Produkują ją głównie mszyce i czerwce.



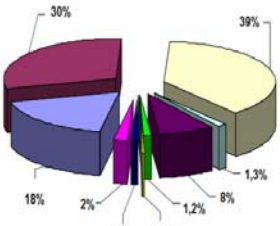







Ślesin, 15-18.05.2011 r.

Skład chemiczny miodu



Składnik	Procent
woda	30%
glukoza	39%
fruktoza	18%
sacharoza	2%
wielocukry	1%
kwasy organiczne	0,3%
aminokwasy	1,2%
biopierwiastki	1,3%
białka, substancje mineralne	8%
enzymy, hormony, witaminy	1,3%

Ślesin, 15-18.05.2011 r.



Właściwości miodu

Właściwości odżywcze:

- wartość kaloryczna 100 g miodu waha się w granicach 320–330 kal;
- glukoza i fruktoza są łatwo przyswajalne przez organizm ludzki.



Właściwości lecznicze:

- w leczeniu chorób serca, układu krążenia i pokarmowego;
- w zaburzeniach układu nerwowego;
- w schorzeniach układu oddechowego i skóry.

Właściwości prozdrowotne:

- obecność związków przeciwutleniających (kwas askorbinowy, karotenoidy, tokoferol, flawonoidy, antocyjany, terpeny i kwasy fenolowe).

Ślesin, 15-18.05.2011 r.



Drogi transportu zanieczyszczeń do produktów pszczelich

Sposoby zanieczyszczenia produktów pszczelich

Bezpośredni (praktyka pszczelarska)	Pośredni (środowisko i rolnictwo)
<ul style="list-style-type: none"> Pestycydy Farmaceutyki Środki używane do zwalczania chorób pszczół Węza woskowa* Środki odstraszające pszczół (przy wybieraniu miodu z uli) Materiały wykorzystywane do budowy ula oraz środki do ochrony drewna 	<ul style="list-style-type: none"> Metale ciężkie Pierwiastki promieniotwórcze Pestycydy Polichlorowane bifenyle Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne Bakterie

* Cienka (1-2 mm) płytka wosku pszczelego, na której wylobione są po obu stronach zaczątki komórek pszczelich.

Ślesin, 15-18.05.2011 r.

Drogi transportu zanieczyszczeń do produktów pszczelich

Praktyka pszczelarska



Środowisko



Rolnictwo



Ślesin, 15-18.05.2011 r.




Produkty pszczele

Produkt pszczele	Sposób wytwarzania
Pylek kwiatowy 	Pszczoły zbieraczki przynoszą pyłek do ula w formie wielobarwnych kuleczek (grudek, zwilżonych odrobiną nektaru lub miodu).
Pierzga 	Powstaje w naturalnym procesie dojrzewania (fermentacji) pyłku kwiatowego ubitego w komórkach plastra, pożywienie białkowe dla pszczoł.
Wosk pszczele 	Wydzielina gruczołów woskowych znajdujących się na spodniej stronie odwłoka młodej pszczoły robotnicy, stanowi materiał do budowy plastrów.
Propolis (kit pszczele) 	Powstaje z lepkich substancji żywicznych i balsamicznych zbieranych przez pszczoły z pączków drzew oraz roślin zielnych, które są wzbogacone wydzieliną gruczołów pszczoł. Pszczoły używają go do uszczelniania gniazda, zalepienia otworów i szpar w ulu itd.
Mleczko pszczele 	Wydzielina gruczołów gardzieliowych pszczoł robotnic-karmielek.

Ślesin, 15-18.05.2011 r.

Normy prawne

W krajach Unii Europejskiej obowiązują jednolite i nowe zasady organizowania i prowadzenia badań kontrolnych pozostałości chemicznych w tkankach zwierząt, żywności pochodzenia zwierzęcego, w wodzie i paszach, które ujęte są w **Dyrektywie Rady 96/23/WE** z dnia 29 kwietnia 1996 r. Konieczność prowadzenia takich badań wynika również z **Rozporządzenia Rady i Parlamentu Europejskiego (2004/882/WE)**.

Substancje przeciwbakteryjne (antybiotyki, sulfonamidy, chinoliny)
Karbaminiany i pyretroidy
Pestycydy chloroorganiczne, polichlorowane bifenyle
Pestycydy fosforoorganiczne
Pierwiastki toksyczne

Ślesin, 15-18.05.2011 r.

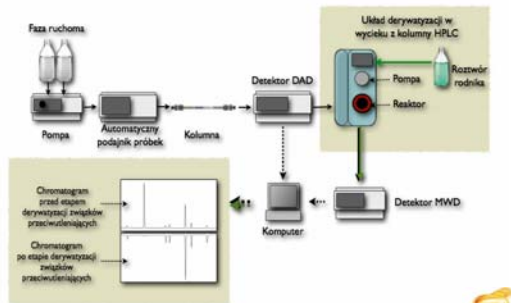
Typy próbek miodu poddane badaniom (w celu oznaczenia aktywności przeciwtleniającej)

Odmiana miodu	Nazwa miodu	
ciemny	spadziowo-iglasty	 
	nektarowo-spadzioowy	
	gryczano-spadzioowy	
	gryczany	
	wrzosowy	
jasny	rzepakowy	 
	akacjowy	
	mniszkowy	
	malinowy	
	wielokwiatowy	
	lipowy	
Zielomiód*	chabrowy	
	pokrzywowy	
	aroniowy	
miód z Nowej Zelandii	aloesowy	
	głogowy	
miód z Nowej Zelandii	manuka (MGO 30+)**	* Zielomiody są to syropy (soki roślin zielarskich z cukrem) przerobione i zakonserwowane przez pszczoły. ** Miód z nektaru kwiatów krzewu Manuka (Nowa Zelandia) o różnej zawartości metylglioksalu (MGO) [mg/kg].

Ślesin, 15-18.05.2011 r.



Wykorzystanie chromatografii cieczowej z derywatacją w wycieku z kolumny do określenia profili związków bioaktywnych wykazujących właściwości przeciwutleniające

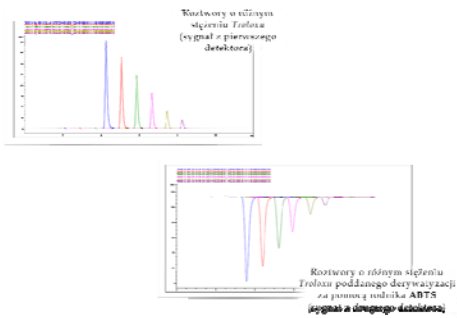


Ślesin, 15-18.05.2011 r.





Kalibracja zestawu do HPLC wyposażonego w układ do derywatacji analitów w wycieku z kolumny

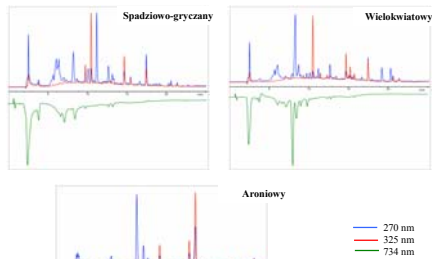


Ślesin, 15-18.05.2011 r.



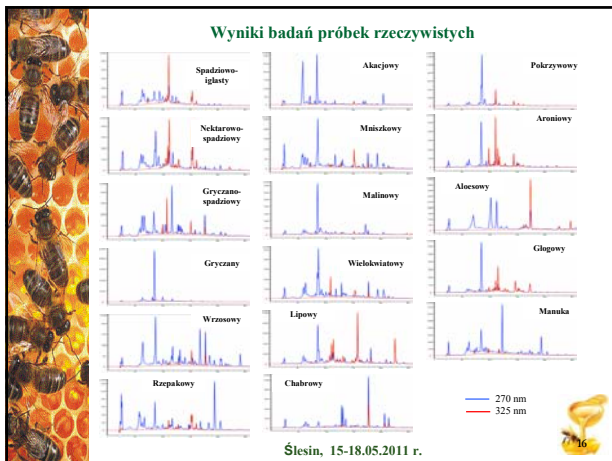


Wyniki badań próbek rzeczywistych



Ślesin, 15-18.05.2011 r.





Charakterystyka metodyk oznaczania ksenobiotyków w próbkach pochodzenia biologicznego

- jednoczesne wykrywanie i oznaczanie dużej liczby substancji należących do różnych grup związków chemicznych (*Multiresidue analysis*);
- duży odzysk analitów, dobra precyzja i wysoka czułość;
- maksymalne oczyszczenie uzyskanych ekstraktów z substancji przeszkadzających przed etapem oznaczania końcowego;
- małe nakłady finansowe;
- łatwość stosowania odpowiednich procedur;
- szybkością uzyskiwania informacji analitycznej oraz
- możliwie niewielkie oddziaływanie na środowisko

Ślesin, 15-18.05.2011 r.

Metodyki oznaczania pestycydów w próbkach produktów pszczelich

Anality	Typ próbki	Wstępne przygotowanie	Technika ekstrakcji	Oczyszczenie ekstraktu	Technika oznaczania końcowego
25 OCP 7 PCB 8 PBDE		-	SPE	-	GC-MS GC-ECD
29 pestycydów	Miód	Rozpuszczenie	SFE	SPE	GC-ECD
22 OPP		Rozpuszczenie	SPE	-	LC-APCI-MS
41 pestycydów	Pylek kwiatowy	Zamrożenie	LLE	SPE	LC-MS/MS
17 OCP	Propolis	Sproszkowanie przez spalenie	LLE	SPE	GC-ECD
18 pestycydów	Wosk pszczeli	Rozpuszczenie	LLE	SPE	GC-MS/MS

Ślesin, 15-18.05.2011 r.



Metodyka analityczna do oznaczania pozostałości pestycydów w próbkach miodu pszczelego

- pozwala na oznaczenie pozostałości 30 pestycydów należących do różnych klas chemicznych;
- na etapie przygotowania próbek do analizy wykorzystano następujące techniki:
 - ekstrakcja QuEChERS
(ang. *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe* - szybka, prosta, tania, efektywna, bezpieczna)
 - ekstrakcja ciecz-ciecz w otwartej kolumnie
(ang. *On-Column Liquid-Liquid Extraction- OCLLE*)

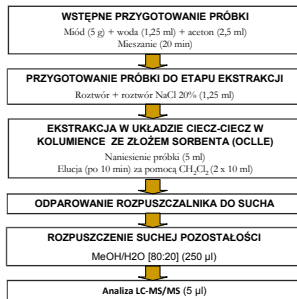


Ślesin, 15-18.05.2011 r.





Procedura analityczna przygotowania próbki miodu do oznaczania zawartości pozostałości pestycydów z wykorzystaniem techniki ekstrakcji OCLLE

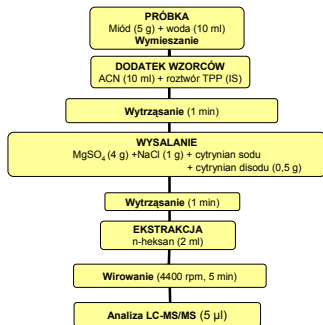


Ślesin, 15-18.05.2011 r.





Procedura analityczna przygotowania próbki miodu do oznaczania zawartości pozostałości pestycydów z wykorzystaniem techniki QuEChERS



Ślesin, 15-18.05.2011 r.



Charakterystyka metrologiczna opracowanej metodyki

Lp.	Analit	QuEChERS		OCLLE		MRL [ng/g]
		MDL [ng/g]	MQL [ng/g]	MDL [ng/g]	MQL [ng/g]	
1	Acrinathrin	7.37	23.65	7.09	22.75	50
2	Azoxystrobin	0.45	1.50	0.41	1.34	10
3	Buprofezin	1.11	3.74	1.08	3.64	50
4	Chloridazon	1.16	3.80	1.07	3.51	50
5	Cymoxanil	1.97	6.48	1.87	6.15	50
6	Cyprodinil	0.88	2.99	0.81	2.76	50
7	Diffubenzuron	0.77	2.63	0.70	2.38	50
8	Dimethomorph	1.18	3.87	1.05	3.46	50
9	Emmamectin benzoate	0.45	1.48	0.45	1.50	10
10	Etofenprox	0.92	2.99	0.86	2.80	50
11	Fenazaquin	1.04	3.46	0.97	3.24	10
12	Fenbuconazole	0.66	2.18	0.57	1.91	50
13	Fenoxaprop-P	0.70	2.30	0.73	2.37	50
14	Fenpropiidin	0.61	2.08	0.57	1.94	20
15	Fenpyroximate	0.65	2.10	0.62	2.00	10

Ślesin, 15-18.05.2011 r.

Charakterystyka metrologiczna opracowanej metodyki

Lp.	Analit	QuEChERS		OCLLE		MRL [ng/g]
		MDL [ng/g]	MQL [ng/g]	MDL [ng/g]	MQL [ng/g]	
16	Fluazifop-P-butyl	0.67	2.19	0.75	2.45	50
17	Flusilazole	0.61	1.98	0.55	1.78	50
18	Flutolanil	0.33	1.10	0.35	1.17	20
19	Metazachlor	1.35	4.49	1.23	4.09	50
20	Methiocarb	0.64	2.14	0.72	2.39	50
21	Phosalone	0.69	2.28	0.69	2.29	50
22	Phoxim	0.69	2.34	0.75	2.55	20
23	Propaquizafop	0.68	2.31	0.64	2.18	50
24	Propham	5.35	17.84	5.02	16.75	50
25	Prosulfocarb	0.60	1.97	0.55	1.79	50
26	Pyridaben	1.57	5.17	1.46	4.81	20
27	Pyriproxyfen	0.74	2.48	0.68	2.28	50
28	Quizalofop-P-ethyl	0.74	2.35	0.68	2.17	50
29	Simazine	0.69	2.29	0.72	2.41	50
30	Tebufenpyrad	0.89	2.98	0.93	3.10	50

Ślesin, 15-18.05.2011 r.

Porównanie wydajności ekstrakcji odzysku 30 pestycydów z próbek miodu z wykorzystaniem techniki QuEChERS oraz techniką OCLLE

Obie metodyki charakteryzują się wartościami granic wykrywalności i oznaczalności poniżej wartości Najwyższych Dopuszczalnych Poziomów pozostałości ustalonych w rozporządzeniach UE dla pestycydów w miodzie pszczelim.

Ślesin, 15-18.05.2011 r.

Czy to wszystko jeśli chodzi o badania miodu?

Nie zajmujemy się badaniami:

- na zawartość składników nieorganicznych:
 - metale ciężkie;
 - metale promieniotwórcze;
- jakościowymi miodu pszczelego.

TO CAŁKIEM INNA HISTORIA.....

Ślesin, 15-18.05.2011 r.

Problemy i wyzwania podczas oznaczania pozostałości pestycydów w organizmach pszczelich

W ostatnich latach w Polsce oraz w większości krajów Unii Europejskiej zauważa się zwiększoną śmiertelnością rodzin pszczelich. Z reguły straty te obserwuje się po zimowli* rodzin pszczelich w postaci **spadłych (masowo ginących) i padłych (kilka osobników) pszczół miodnych** na terenie pasieczyska.

* część okresu zimowania zawarta między ostatnim jesiennym i pierwszym wiosennym oblatem pszczół. Pszczoły nie opuszczają ula podczas zimowli.

Ślesin, 15-18.05.2011 r.

Pszczoły - organizmy biowskaźnikowe

Atrybutem pszczół jest szereg cech, dzięki którym mogą być wykorzystywane do oceny stopnia skażenia środowiska jako biowskaźniki.

Cechy te to:

- powszechność występowania i łatwość identyfikacji;
- stabilność populacji oraz względnie duża tolerancja w stosunku do różnego typu zanieczyszczeń, a także wyraźne zewnętrzne oznaki szoku spowodowanego przez występowanie dużych stężeń zanieczyszczeń w ich otoczeniu;
- zdolność do przechwytywania i gromadzenia zanieczyszczeń

Ślesin, 15-18.05.2011 r.

Pszczoły - organizmy biowskaźnikowe

- występowanie prostej zależności pomiędzy stężeniem zanieczyszczeń w środowisku a parametrem biowskaźnika, który służy do identyfikacji tych zanieczyszczeń, np.: osłabienie lub zwiększenie intensywności procesów fizjologicznych pszczoły miodnej;
- występowanie w różnorodnych typach siedlisk, w tym także na obszarach antropogenicznie zanieczyszczonych;
- odporność na warunki atmosferyczne, co sprawia, że mogą być wykorzystywane praktycznie przez cały rok;



www.ozwalacja44.org.pl



Ślesin, 15-18.05.2011 r.

Problemy i wyzwania podczas oznaczania pozostałości pestycydów w organizmach pszczelich

Jednym z powodów zmniejszania się populacji pszczół w pasiece, oprócz błędów popełnionych przez pszczelarza w poprzednim sezonie wegetacji, jest nieumiejętne stosowanie środków ochrony roślin.

Świadczą o tym wyniki badań wykonane na spadłych bądź padłych organizmach pszczelich pobranych z ginących rodzin, w których stwierdzono nie tylko obecność mikroorganizmów chorobotwórczych i pasożytów, ale także wykryto w nich obecność i oznaczono pozostałość wielu pestycydów.



Ślesin, 15-18.05.2011 r.

Metodyki oznaczania pestycydów w próbkach organizmów padłych i spadłych pszczół

Anality	Typ próbki	Wstępne przygotowanie	Technika ekstrakcji	Oczyszczenie ekstraktu	Technika oznaczania końcowego
37 pestycydów		Liofilizacja, homogenizacja	LLE	Filtracja	GC-NPD LC-APCI-MS
12 insektycydów		Homogenizacja	MSPD	-	GC-NPD
29 pestycydów	Organizmy pszczele	Liofilizacja	SPE	GPC	GC-NPD/ECD/FID
22 OPP		-	MSPD	-	LC-MS
17 pestycydów		Zamrożenie i sproszkowanie	OC LLE	-	LC-MS/MS

Ślesin, 15-18.05.2011 r.



Metodyka analityczna do oznaczania pozostałości pestycydów w próbkach padłych i spadłych pszczół

- pozwala na oznaczenie pozostałości 27 pestycydów należących do różnych klas chemicznych;
- na etapie przygotowania próbek do analizy wykorzystano technikę:
 - QuEChERS
 której procedura została zmodyfikowana.



Ślesin, 15-18.05.2011 r.

Procedura analityczna podczas oznaczania pestycydów w próbkach padłych i spadłych pszczół



Ślesin, 15-18.05.2011 r.



Charakterystyka metrologiczna opracowanej metodyki

Lp.	Analit	MDL [ng/ml]	MLQ [ng/ml]
1	alpha-cypermethrin	1,25	3,76
2	Azinphos-ethyl	1,46	4,39
3	Azinphos-methyl	1,26	3,77
4	Benfuracarb	1,14	3,42
5	Bifenthrin	1,35	4,05
6	Carfentrazon-ethyl	1,26	3,78
7	Chloridazon	1,48	4,44
8	Coumaphos	1,65	4,95
9	Diazinon	1,34	4,02
10	Dimethoate	1,17	3,51
11	Dimoxystrobin	1,29	3,87
12	Fenoxycarb	1,23	3,69
13	Fenpropidin	0,77	2,31

Ślesin, 15-18.05.2011 r.





Charakterystyka metrologiczna opracowanej metodyki

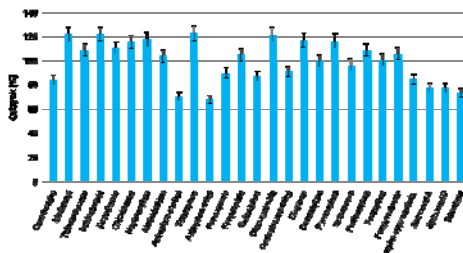
Lp.	Name	MDL [ng/ml]	MQL [ng/ml]
14	Heptenophos	0,99	2,97
15	Imidacloprid	1,28	3,84
16	Indoxacarb	1,22	3,66
17	Methidathion	1,51	4,53
18	Methomyl	1,19	3,57
19	Omethoate	1,21	3,63
20	Profenophos	1,14	3,42
21	Pyrazophos	1,29	3,87
22	Quinalphos	1,23	3,69
23	Spinosad A	0,98	2,94
24	Spinosad D	0,91	2,73
25	Temephos	1,23	3,69
26	Thiamethoxam	1,14	3,42
27	Triazophos	1,18	3,54

Ślesin, 15-18.05.2011 r.





Odzysk



Odzysk analityków z badanych próbek jest rzędu 70-120%. Badania przeprowadzono zgodnie z **Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis Food and Feed SANCO/10684/2009**.

Ślesin, 15-18.05.2011 r.





Co dalej?

1. Nawiązano kontakty z **Wojewódzkim Związkiem Pszczelarzy w Gdańsku** co znacznie ułatwi dostęp do próbek zarówno produktów pszczelich jak i padłych i spadłych pszczół.
2. Przedmiotem zainteresowań będą również próbki padłych i spadłych trzmieli.



Ślesin, 15-18.05.2011 r.



Dlaczego trzmiele?

Trzmiele – podobnie jak pszczoły:

- należą do owadów społecznych
- zapylają rośliny pożytkowe
- posiadają zdolność do przechwytywania i gromadzenia zanieczyszczeń



Trzmiel ogrodnicy (*Bombus hortorum*)



Trzmiel gajowy (*Bombus lucorum*)



Trzmiel kamiennik (*Bombus lapidarius*)

<http://www.tbop.org.pl/programy/ochrona/trzmiele/trzmiele.html>
 Ślesin, 15-18.05.2011 r.

Publikacje poświęcone problematyce pozostałości zanieczyszczeń w miodzie

1. M.W. Kujawski, J. Namieśnik, Challenges in preparing honey samples for chromatographic determination of contaminants and trace residues, *TrAC*, **27**, 785 (2008).
2. Z. Bargańska, J. Namieśnik, Pesticide Analysis of Bee and Bee Product Samples, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **40**, 159 (2010).
3. M.W. Kujawski, J. Namieśnik, Levels of 13 multi-class pesticide residues in Polish honeys determined by LC-ESI-MS/MS, *Food Control*, **22**, 914 (2011).
4. Z. Bargańska, M. Ślebioda, J. Namieśnik, Determination of antibiotic residues in honey, *TrAC* (przyjęta do druku, DOI 10.1016/j.trac.2011.02.014).

Ślesin, 15-18.05.2011 r.

<http://www.pg-gda.pl/chem/Katedry/Analityczna/>



Kursy indywidualne „Na zamówienie”

- Chromatografia Gazowa - poziom podstawowy
- Aspekty praktyczne wykorzystania Chromatografii Gazowej
- Kontrola i jakość wyników pomiarów analitycznych
- Wysokosprawną Chromatografią Cieczową - zakres ogólny, w tym poziom podstawowy
- Wysokosprawną Chromatografią Cieczową - poziom zaawansowany
- Przygotowanie próbek do analizy
- ABC techniki SPE
- Technika Wysokosprawną Chromatografią Cieczową w analizie żywności

**INNOVATIVE ECONOMY**
Wydawnictwo MALAMUT

The exploitation of white cabbage for phytoremediation and biofumigation of soils (AGROBIOKAP)

Priority axis: 1. Research and development of novel technologies
Action: 1.3. Support for R+D projects carried out by scientific institutions on behalf of industrial companies
Sub-action: 1.3.1. Development projects
No. of project: WND-POIG.01.03.01.00-138/09
Recommended subsidy: 3 391 950,00 PLN
Project deadline: 01.07.2007-01.07.2013

CONTACT
Gdansk University of Technology, Chemical Faculty
G. Narutowicza 11/12 Str., 80-233 Gdańsk
phone/fax: 0048 58 347 26 25
e-mail: agrobiokap@chem.pg.gda.pl
<http://www.chem.pg.gda.pl/agrobiokap/>

Project co-financed by European Union from European Regional Development Fund in a framework of the Innovative Economy Operational Programme 2007-2013

Ślesin, 15-18.05.2011 r.



Euro Food Chem XVI
Translating food chemistry into health benefits
Gdańsk 6th-8th July 2011

CONTACT US
Gdansk University of Technology
Chemical Faculty
Narutowicza 11/12 Str.
80-233 Gdańsk, POLAND
e-mail: eurofoodchemxvi@gmail.com
<http://www.eurofoodchemxvi.eu/>



Ślesin, 15-18.05.2011 r.



Źródło informacji – forum dyskusyjne
Wydawnictwo MALAMUT udostępniło specjalną zakładkę na stronie domowej
<http://www.malamut.pl/analityka.htm>
Zachęcamy do dyskusji i przedstawiania propozycji.

Wydana została broszura „**TERMINOLOGIA-PIĘTA ACHILLEŚOWA ANALITYKÓW**” stanowiąca wkładkę do jednego z numerów czasopisma ANALITYKA.



Ślesin, 15-18.05.2011 r.



WARSZTATY CHROMATOGRAFIA JONOWA W PRAKTYCE



- ✓ **Termin warsztatów:** 15-16 wrzesień 2011 r.
- ✓ **Miejsce:** Katedra Chemii Analitycznej
Politechniki Gdańskiej
Gdańsk, ul. Narutowicza 11/12
- ✓ **Liczba uczestników:** 24 osoby - decyduje kolejność zgłoszeń

Kontakt:

Pani Małgorzata Zalewska, tel. 22 649 10 41 w.15,

e-mail: m.zalewska@aga-analytical.com.pl

Pan Andrzej Dziegielewski, tel. 22 649 10 41 w.17,

e-mail: a.dziegielewski@aga-analytical.com.pl

Ślesin, 15-18.05.2011 r.





Dziękuję za uwagę

Ślesin, 15-18.05.2011 r.