

Zobacz dyskusje, statystyki i profile autorów tej publikacji na stronie: <https://www.researchgate.net/publication/242403759>

Oznaczanie pozostałości w miodzie po zabiegach kwasem mrówkowym i szczawiowym w warunkach polowych

Artykuł w Apidologie · lipiec
2002
DOI:
10.1051/apido:2002029

CYTATY
101

CZYTA
2204

5 autorów, w tym:



Stefan Bogdanow Nauka
o produktach pszczelich

126 PUBLIKACJI 13 064 CYTATÓW

ZOBACZ PRO-
FIL



Agroskop Jeana-
Daniela Charrière'a

142 PUBLIKACJE 2604 CYTATÓW

ZOBACZ PRO-
FIL

Cała zawartość znajdująca się na tej stronie została przesłana przez Jean-Daniela Charrière'a 24 lutego 2015 r.

Użytkownik zażądał ulepszenia pobranego pliku.

Apidologie 33 (2002) 399–409 ©
INRA/DIB-AGIB/EDP Sciences, 2002
DOI: 10.1051/apido:2002029

399

Oryginalny artykuł

Oznaczanie pozostałości w miodzie po zabiegach kwasem mrówkowym i szczawiowym w warunkach polowych

Stefan BOGDANOV*, Jean-Daniel CHARRIÈRE, Anton IMDORF,
Verena KILCHENMANN, Peter FLURI

Szwajcarskie Centrum Badań nad Pszczołami, FAM, 3003 Berno, Szwajcaria

(Otrzymano 30 sierpnia 2001 r.; poprawiono 4 lutego 2002 r.; zaakceptowano 1 marca 2002 r.)

Streszczenie – Doświadczenia polowe z użyciem kwasu mrówkowego i kwasu szczawiowego w celu zwalczania *Varroa destructor* prowadzono jesienią, zgodnie z zaleceniami szwajcarskimi, przez trzy kolejne lata w różnych pasiekach w Szwajcarii. W miodzie zebranym rok po zabiegu oznaczono następujące parametry: kwas mrówkowy, kwas szczawiowy i wolną kwasowość. W miodach rodzin nietraktowanych stwierdzono następujące przedziały wartości: kwas mrówkowy od 17 do 284 mg/kg, $n = 34$; kwas szczawiowy od 11 do 119 mg/kg, $n = 33$. Wystąpił niewielki, ale bezproblemowy wzrost poziomu kwasu mrówkowego w porównaniu do poziomów w grupie kontrolnej; średnia: 46 mg/kg, maksymalna: 139 mg/kg. Nie stwierdzono wzrostu stężenia kwasu mrówkowego wraz ze wzrostem liczby lat leczenia. Jeśli awaryjne zabiegi kwasem mrówkowym przeprowadzono wiosną, poziomy pozostałości były znacznie wyższe: średni wzrost 193 mg/kg, maksymalny 417 mg/kg. Zawartość kwasu szczawiowego nie uległa zmianie nawet po dwóch kolejnych zabiegach tej samej jesieni. Nie zaobserwowano wzrostu wolnej kwasowości po skojarzonym leczeniu kwasem mrówkowym i szczawiowym w ciągu trzech lat badania.

miód/pozostałość/kwas mrówkowy/kwas szczawiowy/wolna kwasowość/*Varroa destructor*

1. WSTĘP

Obecnie syntetyczne akarycydy są regularnie stosowane do zwalczania *Varroa destructor* Anderson i Truman (dawniej *Varroa Jacobsoni* Oudemans). Jednakże ze względu na swój lipofilowy i trwały charakter kumulują się w wosku, a w mniejszym stopniu w miodzie (Bogdanov i in., 1998b; Wallner, 1999). Ostatnio w wielu krajach świata pojawiły się roztocza odporne na roztocza (Milani, 1999). Z powodu tych problemów do zwalczania *V. destructor* opracowano naturalne, nietoksyczne

Naturalnymi składnikami miodu są kwasy szczawiowy i mrówkowy. Są dopuszczone do stosowania w pszczelarstwie biologicznym (Rozporządzenie Rady UE, 1999). Zgodnie z rozporządzeniem UE w sprawie pozostałości (1995) kwas mrówkowy posiada status GRAS (Generally Recognized As Safe) i ustalanie MRL (Maximum Residue Limit) nie jest konieczne. Z drugiej strony, kwas szczawiowy nie jest wymieniony w przepisach UE dotyczących pozostałości. W większości krajów Europy Zachodniej kwas szczawiowy nie jest zarejestrowany, choć jest szeroko stosowany ze względu na dużą skuteczność w przypadku braku czerwii (Nanetti i Stradi, 1997). Istnieje zatem pilna potrzeba dostar-

substancje, takie jak różne kwasy organiczne (Liebig, 1997; Imdorf i Charrière, 1998) oraz olejki eteryczne (Imdorf i in., 1999). Substancje te są coraz częściej stosowane w całej Europie.

czenia danych dotyczących pozostałości w celu umożliwienia rejestracji produktów zawierających kwas szczawiowy do kontroli V. destructor.

Do chwili obecnej badania pozostałości prowadzono w kontrolowanych warunkach eksperymentalnych

* Korespondencja i przedruki E-mail:
stefan.bogdanov@fam.admin.ch

400

S. Bogdanov i in.

po pojedynczym traktowaniu kwasem mrówkowym (Stoya i in., 1986; Hansen i Guldborg, 1988; Krämer, 1994; Barbattini i in., 1994; Capolongo i in., 1996; Radke i Hedtke, 1998). Istnieje kilka krótkich doniesień na temat pozostałości po pojedynczym traktowaniu kwasem szczawiowym (Radezki, 1994; Mutinelli i in., 1997; Del Nozal i in., 2000; Bernardini i Gardi, 2001), ale nie pozwalają one na szczegółowe określenie: ocena ewentualnych problemów z pozostałościami. Do chwili obecnej nie przeprowadzono długoterminowych badań terenowych mierzących możliwe pozostałości po wielokrotnym zastosowaniu kwasu mrówkowego i szczawiowego w pszczelarstwie praktycznym. Rzeczywiście, takie badania są niezbędne do oceny możliwego długoterminowego wpływu pozostałości akarycydu na jakość produktów pszczelich. Przeprowadzono badania terenowe mające na celu wyjaśnienie długoterminowego wpływu powtarzanego stosowania tymolu (Bogdanov i in., 1998a) i syntetycznych akarycydów (Bogdanov i in., 1998b) na jakość miodu i wosku. Ponieważ kwasy organiczne są substancjami hydrofilowymi, które nie kumulują się w wosku, konieczne są jedynie badania miodu. Celem niniejszego badania było określenie poziomu pozostałości miodu po zabiegu kwasem mrówkowym i szczawiowym w praktycznych warunkach szwajcarskiego pszczelarstwa.

2. MATERIAŁY I METODY

2.1. Zabiegi kwasami organicznymi

Przeprowadzono trzy doświadczenia w pasiekach położonych w różnych częściach Szwajcarii w latach 1996, 1997 i 1998. Liczba pasiek biorących udział w badaniach zmieniała się w ciągu trzech lat badań (patrz Tabele III do VI). Średnia liczba uli w pasiece wynosiła

130 ml 70% kwasu mrówkowego na kolonię stosowano przez odparowanie w ciągu siedmiu dni.

2.1.2. Doraźne leczenie mrówką kwas na wiosnę

Doraźne zabiegi kwasem mrówkowym na wiosnę przeprowadzono w latach 1997 i 1999 w 7 różnych pasiekach, które nie brały udziału we wskazanych powyżej doświadczeniach (tab. IV). Zabiegi doraźne musiały zostać przeprowadzone ze względu na dużą presję inwazji roztoczy, która zagrażała przetrwaniu kolonii. Bezpośrednio po wiosennych zbiorach miodu przeprowadzono jeden zabieg kwasem mrówkowym w ciągu jednego tygodnia, w okresie od końca maja do początku czerwca, jak opisano powyżej dla zabiegu normalnego. Przed zabiegiem zdjęto nakładki miodowe.

2.1.3. Zabiegi kwasem szczawiowym

Zabiegi kwasem szczawiowym metodą oprysku prowadzono w okresie bezczerwowym od początku listopada do końca grudnia. Opryskiwano metodą nanoszenia roztworu 30 g dihydratu kwasu szczawiowego/l wody według Charrière i in. (1998b).

W 1998 r. w niektórych pasiekach przed opryskami przeprowadzono opryskiwanie w oddzielnych próbach w celu sprawdzenia skuteczności różnych metod aplikacji kwasu szczawiowego. W tych przypadkach na każdą rodzinę pszczoł wlewano 50 ml 60 g dwuwodnego kwasu szczawiowego/l roztworu woda:sacharoza (1:1) zgodnie z Charrière i in. (1998b) przed obróbką opryskową.

2.2. Pobieranie próbek miodu

Większość próbek do badań pobierano z pierwszego miodu zebranego wiosną. Jednakże w pewnych okolicznościach (np. przy braku wystarczającego dopływu miodu wiosennego) pszczelarze w Szwaj-

12 (minimum 9). W tych pasiekach pszczelarze przestrzegali określonego protokołu leczenia. W okresie od sierpnia do września przeprowadzono dwa zabiegi kwasem mrówkowym, a następnie jedno leczenie kwasem szczawiowym w bezczermowym okresie późnej jesieni od listopada do grudnia. Jako kontrolę pobrano próbki miodu z sąsiednich pasiek, którym podano Apistan (patrz także rozdz. 2.2).

2.1.1. Normalne leczenie kwasem mrówkowym jesienią

Zabiegi kwasem mrówkowym stosowano dwukrotnie jesienią, zwykle w sierpniu i wrześniu, za pomocą różnych urządzeń do aplikacji, głównie za pomocą dozownika Liebefelda (Charrière i in., 1998a). Dwie aplikacje

carii zbierają pierwszy miód latem. Z tego powodu musieliśmy uwzględnić w badaniu miodu letnie. Nie mierzono wydajności miodu, gdyż chcieliśmy zbadać pozostałości w warunkach praktycznych, niezależnych od wydajności miodu. Plony miodu pochodzą z oficjalnych regionalnych raportów ze zbiorów Szwajcarskich Stowarzyszeń Pszczelarskich (średnie i zakres zmienności):

1996: 4,1, 1,7–7,3 1997: 6,9, 2,0–12,6
1998: 12,9, 7,9–15,6 1999: 9,9–12,4.

Ponieważ próbki kontrolne i próbne pobrano z sąsiednich pasiek, plony miodów kontrolnych i doświadczalnych były podobne.

Próbki kontrolne i poddane zabiegowi podzielono na dwie grupy ze względu na ich przewodność elektryczną (patrz rozdz. 2.3). Hipoteza, że elektryka

przewodność dla danego dnia nie różniła się pomiędzy próbkami z kolonii nietraktowanych i traktowanych, sprawdzono za pomocą testu t-Studenta (Microsoft Excel 1997).

2.2.1. Próbne próbki miodu

Po jesiennych zabiegach pobierano próbki miodu z pierwszego zbioru miodu wiosną lub latem następnego roku. Po wiosennych zabiegach pobrano próbki z letnich zbiorów tego samego roku. W każdej pasiece pobrano trzy próbki miodu podczas napełniania miodem ze zbiornika miodu na początku, w środku i na końcu procesu napełniania. Do oceny próby wykorzystano średnią pomiarów tych trzech próbek.

2.2.2. Kontroluj próbki miodu

Kontrolne próbki miodu pobrano w taki sam sposób, jak próbki próbne z pasiek znajdujących się w sąsiedztwie pasiek leczonych, aby mieć pewność, że miody kontrolne były jak najbardziej podobne do miodów próbnych. Pasieki kontrolne traktowano Apistanem.

2.3. Analiza miodu

Próbki miodu przechowywano w temperaturze pokojowej do analizy w ciągu 6 miesięcy od zbioru miodu. Kwas mrówkowy i szczawiowy oznaczono za pomocą zestawu Böhringer szczawiowego kwasu

Pomiary po 3 i 6 miesiącach wykazały, że stężenia kwasów pozostały na poziomie wyjściowym (wszystkie pomiary mieściły się w granicach precyzji metody, patrz tab. I).

W celu określenia odzysku do miodu dodano 150 i 300 mg kwasu mrówkowego/kg oraz 50 i 100 mg kwasu szczawiowego/kg ($n = 8$ dla każdego poziomu stężenia). Odzyski dla obu poziomów stężeń były takie same, dlatego uzysk przedstawiono tutaj jako średnią z obu poziomów stężeń: Kwas mrówkowy: 93% ($sd = 4\%$, $n = 16$) dla miodu wzbogaconego 150 i 300 mg/kg; kwas szczawiowy: 84% ($sd = 24\%$, $n = 16$) dla miodu wzbogaconego 50 i 100 mg/kg.

Dokładność pomiaru, określoną współczynnikiem zmienności CV%, określono dla trzech różnych poziomów stężeń (tab. I). Jeden z badanych miodów był ślepą próbą „niewzbogaconą”, pozostałe stanowiły tę samą próbkę miodu, wzbogaconą kwasem mrówkowym w ilościach 150 i 300 mg/kg oraz kwasem szczawiowym w ilościach 50 i 100 mg/kg. Dokładność pomiaru kwasu mrówkowego była nieco lepsza niż pomiaru kwasu szczawiowego. Granica wykrywalności obu metod enzymatycznych mieściła się w przedziale od 3 do 5 mg/kg.

Wolną kwasowość (w miliekwiwalentach (meq) na kg) i przewodność elektryczną (w milisiemensach (mS) na cm) oznaczono zgodnie ze zharmonizowanymi metodami Międzynarodowej Komisji ds. Miodu (Bogdanov i in., 1997). Do grupy składającej się z miodów kwiatowych oraz mieszanek kwiatowych i spadziowych zaliczały się miody o wartości poniżej 0,8 mS/cm, natomiast

szczawiowego, za pomocą którego oznacza się oba kwasy w tej samej próbce (Böhringer Mannheim. Trwałość kwasów mrówkowego i szczawiowego zbadano dokonując pomiaru tych kwasów w dwóch miodach przechowywanych w temperaturze pokojowej (20–25 o C) przez sześć miesięcy. Miody posiadały następujące stężenia początkowe:

miód 1: kwas mrówkowy 71,6 mg/kg i kwas szczawiowy 45,0 mg/kg; miód 2: kwas mrówkowy 224,0 mg/kg i kwas szczawiowy 89,0 mg/kg.

miody o wartości powyżej 0,8 mS zaliczano do typu spadziowego (Bogdanov i in., 1999b). Ponieważ zawartość kwasu mrówkowego i szczawiowego zależy od rodzaju miodu (tab. II), miody próbne i kontrolne należały do tej samej grupy miódów, która we wszystkich z wyjątkiem jednego doświadczenia (patrz rozdz. 3.1) należała do miódów miodowych grupa składająca się z miódów kwiatowych i mieszanek kwiatowych i spadziowych. Nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy pomiędzy przewodnością elektryczną miódów doświadczalnych i kontrolnych. W grupie kontrolnej nie stwierdzono miódów jednokwiatowych

Tabela I. Precyzja i powtarzalność enzymatycznego oznaczania kwasu mrówkowego i szczawiowego. Wartości w mg/kg.

	Kwas mrówkowy			Kwas szczawiowy		
przeciętny	74.1	214,9	353,9	47,9	86,7	134.1
ul. odchylenie	3.3	7.7	10.3	6.4	16.0	22,7
% CV	4.4	3.6	2.9	13.4	18.4	16.9
n (próbki)	11	8	10	9	8	12

Tabela II. Kwas mrówkowy, kwas szczawiowy i wolna kwasowość w miodach nietraktowanych. Dane wyrażone jako: przewodność (Co) w mS/cm; kwas mrówkowy (FA) i kwas szczawiowy (OA) w mg/kg; wolna kwasowość (FAC) w meq/kg.

	kwiatowe, mieszanki kwiatowo-spadziowe				miody spadziowe			
	Współ	FA	OA	FAC	Współ	FA	OA	FAC
przeciętny	0,41	41	25	17	0,98	93	70	27
ul. odchylenie	0,14	17	11	5	0,14	68	25	6
min-maks	0,15–0,69	17–85	8–51	8–26	0,85–1,3	42–284	38–119	19–37
n (próbki)	23	24	23	21	10	10	10	8
P (test t)					0,000	0,002	0,000	0,000

grupy miodu poddanego zabiegowi, jak zbadano za pomocą analizy sensorycznej.

3.2. Wpływ zabiegów na mrówkę i zawartości kwasu szczawiowego oraz na wolną kwasowość

3. WYNIKI

3.2.1. Normalne leczenie kwasem mrówkowym jesienią

3.1. Naturalna zawartość kwasu mrówkowego, kwas szczawiowy i wolna kwasowość.

Wpływ zabiegów kwasem mrówkowym na po-

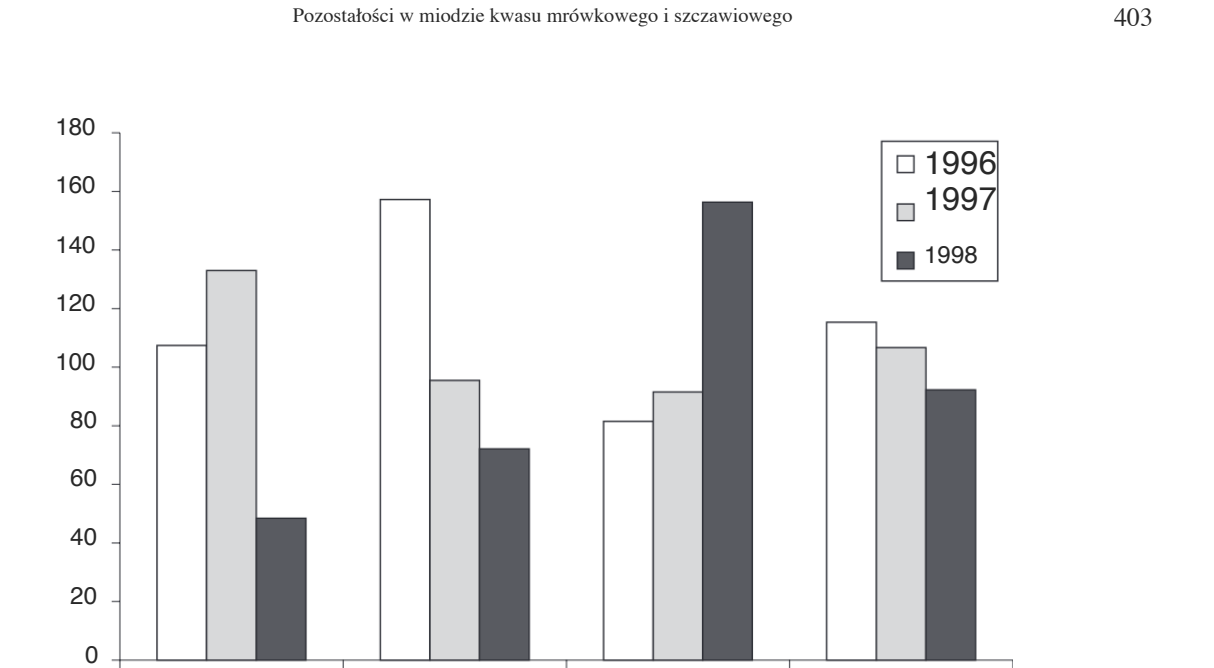
Tabela II podsumowuje pomiary kwasowości całkowitej oraz kwasu mrówkowego i szczawiowego we wszystkich miodach kontrolnych w ciągu trzech lat badań. Zawartość naturalnego kwasu mrówkowego wahała się od 17 do 284 mg/kg, natomiast zawartość kwasu szczawiowego wahała się od 8 do 119 mg/kg. Średnia zawartość zarówno kwasów, jak i wolnej kwasowości w miodzie spadziowym była istotnie wyższa niż w grupie składającej się z miodu kwiatowego oraz mieszanek miodu kwiatowego i spadziowego. Miody spadziowe zawierały średnio dwukrotnie więcej kwasu mrówkowego, prawie trzykrotnie więcej kwasu szczawiowego i o 60% większą kwasowość.

zostałości miodu w ciągu trzech kolejnych lat podsumowano w Tabeli III. W miodach pochodzących z pasiek, które poddano zabiegom poprzedniej jesieni, stwierdzono znaczny wzrost zawartości kwasu mrówkowego. Ogólny średni wzrost zawartości kwasu mrówkowego podczas trzyletniego badania wyniósł 46 mg/kg, w zakresie 0–139 mg/kg.

W trzech różnych pasiekach zabiegi kwasem mrówkowym prowadzono przez trzy kolejne lata. Po wielokrotnych zabiegach nie zaobserwowano wzrostu zawartości kwasu mrówkowego w miodzie (ryc. 1). Brak wzrostu wynika z dużej naturalnej zmienności kwasu mrówkowego, stąd niewielkie różnice pomiędzy miodami

Tabela III. Wpływ jesiennego zabiegu kwasem mrówkowym prowadzonego przez trzy kolejne lata na zawartość kwasu mrówkowego w miodzie w następnym roku w różnych szwajcarskich pasiekach. Wartości w mg/kg. Stosowano miody kwiatowe i mieszane kwiatowo-spadziowe (patrz Materiały i metody).

	1996		1997		1998	
	kontrola	leczenie	kontrola	leczenie	kontrola	leczenie
przeciętny	45	94	31	91	41	71
ul. odchylenie	18	49	6	27	21	33
min-maks	20–80	17–157	20–40	66–133	17–85	42–156
n (pasieki)	10	10	5	6	9	11
P (test t)		0,008		0,001		0,030



Rycina 1. Pozostałości w miodzie po wielokrotnym, długotrwałym działaniu kwasem mrówkowym jesienią, przez trzy kolejne lata. Doświadczenia przeprowadzono w trzech szwajcarskich pasiekach. Miody były typu kwiatoowego i mieszanego kwiatowo-spadziowego. (Więcej szczegółów można znaleźć w sekcji Materiały i metody.)

Tabela IV. Wpływ zabiegu kwasem mrówkowym przeprowadzonego wiosną na zawartość kwasu mrówkowego i kwasowość wolną w miodzie zebranym latem tego samego roku. Wartości kwasu mrówkowego (FA) w mg/kg, wolna kwasowość (FAc) w meq/kg, Ap.: numer pasieki.

Ap.	Rok próbny, typ miodowy	Sterowanie AF (FAe)	Leczenie FA (FAc)	Wzrost FA (FAc)
1997 1				
	spadziowa	127 (27)	403 (30)	276 (3)
2	spadź 1999	89 (18)	506 (30)	417 (12)
3	kwiatowe, mieszanki kwiatowo-spadziowe	20 (14)	58 (13)	38 (-)
4	kwiatowe, mieszanki kwiatowo-spadziowe	81 (21)	285 (22)	204 (1)
5	mieszanki kwiatowe i kwiatowo-miodowo-rosiowe	42 (23)	261 (26)	219 (3)
6	mieszanki kwiatowe i kwiatowo-miodowo-rosiowe	23 (25)	103 (26)	80 (1)
7	spadziowa	47 (28)	166 (26)	119 (-)
	przeciętny	61 (22)	254 (25)	193 (3)

404

S. Bogdanow i in.

zebranych w pasiekach w ciągu trzech lat. Pierwotnie planowaliśmy przeprowadzić doświadczenia z akumulacją kwasu mrówkowego w siedmiu pasiekach. Natomiast u czterech z nich w jednym z lat doświadczenia odnotowano zbiór spadzi. Ponieważ w naszych badaniach wzięto pod uwagę wyłącznie miody kwiatowe i spadziowe, nie mogliśmy uwzględnić wyników uzyskanych w tych czterech pasiekach.

zawartość wynosiła 193, (zakres 38 mg/kg – 417 mg/kg). W niektórych przypadkach wzrost kwasu mrówkowego może zmienić smak miodu (patrz rozdz. 4.5.2). Z drugiej strony te pilne zabiegi spowodowały jedynie niewielki, nieistotny statystycznie wzrost wolnej kwasowości; limit 40 meq/kg nigdy nie został przekroczony.

3.2.3. Zabiegi kwasem szczawiowym

3.2.2. Doraźne leczenie mrówką
kwas na wiosnę Jak opisano w
Sekcji 2.1.2, sytuacja awaryjna
zabiegi ze względu na dużą inwazję warrozy mu-
siały zostać zastosowane w siedmiu pasiekach w
Szwajcarii. Wyniki prób podsumowano w Tabeli
IV. Średni wzrost kwasu mrówkowego

pozostałości miodu w ciągu trzech kolejnych lat
zestawiono w Tabeli V. Nie stwierdzono wzrostu
zawartości kwasu szczawiowego w miodach z
pasiek, które poddano zabiegowi poprzedniej jesieni;
zarówno miody kontrolne, jak i próbne charak-
teryzowały się podobnymi wartościami. Zabieg
łączony polegający na oprysku i wkraplaniu kwasu
szczawiowego

Tabela V. Wpływ jesiennego oprysku kwasem szczawiowym prowadzonego przez trzy kolejne lata na zawar-
tość kwasu szczawiowego w miodzie zebrany w kolejnym roku w różnych szwajcarskich pasiekach. W
1998 roku oprócz oprysków przeprowadzono zraszanie. Wartości w mg/kg. Stosowano miody kwiatowe i
mieszane kwiatowo-spadziowe (patrz Materiały i metody).

s: opryskiwanie; s+t: opryskiwanie+ściekanie.

	1996		1997		1998		
	kontrola	leczenie	kontrola	leczenie	kontrola	leczenie	leczenie s+t
przeciętny	41	33	22	18	19	19	26
ul. odchylenie	12	18	9	9	5	10	12
min.–maks	18–79	16–51	8–30	6–27	10–30	9–36	15–44
n (pasieki)	9	9	5	6	9	4	7
P (test t)		0,149		0,152		0,969	0,145

Tabela VI. Wpływ kolejnych zabiegów kwasem mrówkowym (długoterminowy) i kwasem szczawiowym
(oprysk), przeprowadzonych jesienią w różnych szwajcarskich pasiekach i zebranych w następnym roku, na
wolną kwasowość miodu. Wartości w meq/kg miodu. Stosowano miody kwiatowe i mieszane kwiatowo-
spadziowe (patrz: Materiały i metody).

	1996		1997		1998	
	kontrola	leczenie	kontrola	leczenie	kontrola	leczenie
przeciętny	22	24	17	18	13	14
ul. odchylenie	5	9	1	5	3	8
min.–maks	13–26	13–46	16–18	14–28	8–17	6–34
n (pasieki)	11	7	5	6	9	10
P (test t)		0,671		0,525		0,694

jesień również nie spowodowała istotnego
wzrostu stężenia kwasu szczawiowego w mi-
odzie.

przez pszczoły (Echigo i Takenaka, 1974). Za-
wartość kwasu mrówkowego w miodzie została
określona przez wielu badaczy. Stwierdzono war-

3.2.4. Wpływ leczenia skojarzonego z kwasem mrówkowym i szczawiowym na kwasowość miodu

W większości pasiek przez trzy lata badań stosowano zarówno kwas mrówkowy, jak i szczawiowy. Wpływ tych połączonych zabiegów na kwasowość miodu podsumowano w Tabeli VI. Wolna kwasowość próbek kontrolnych i poddanych zabiegowi była praktycznie taka sama. Tylko jeden miód o zawartości 46 meq/kg nieznacznie przekroczył obecny limit 40 meq/kg dla wolnej kwasowości.

4. DYSKUSJA

4.1. Metody oznaczania Testy enzymatyczne do oznaczania

Najczęściej wykorzystuje się kwasy organiczne zawarte w miodzie, gdyż są one bardzo specyficzne i nie wymagają drogiego oprzyrządowania. Nasze wyniki wykazały, że pomiary za pomocą zestawu do pomiaru kwasu szczawiowego firmy Böhlinger charakteryzują się akceptowalną precyzją i odzyskiem. W tym teście w tym samym roztworze próbki można oznaczyć zarówno kwas szczawiowy, jak i mrówkowy, co jest bardzo wygodne. Alternatywnie można zastosować zestaw do oznaczania kwasu szczawiowego firmy Sigma (Mutinelli i in., 1997). HPLC (Del Nozal i in., 1998, 2000) i GC-MS (Unterweger i in., 2001) są cennymi alternatywami, które są stosowane do oznaczania kwasów organicznych w miodzie, szczególnie gdy oznacza się więcej niż jeden kwas organiczny. Porównywalność pomiarów enzymatycznych i HPLC nie została ściśle ustalona, ale wartości uzyskane obiema metodami są podobne. Rzeczywiście, Del Nozal i in. (1998 i 2000) zmierzili kwas mrówkowy i szczawiowy metodą HPLC i ustalili ilości kwasu mrówkowego i szczawiowego podobne do wyników wszystkich innych badaczy, którzy stosowali pomiary enzymatyczne (patrz rozdz. 4.2).

4.2. Naturalna zawartość kwasów organicznych Kwas mrówkowy i szczawiowy to miód naturalny

składniki. Nie jest jasne, w jakim stopniu pochodzą one od pszczoł, czy z nektaru, ale donoszono, że do miodu dodaje się kwas szczawiowy

tości od 9 do 1229 mg/kg, najwyższe wartości odnotowano w przypadku miodu kasztanowego (Stoya i in., 1986; Kary, 1987; Talpay, 1989; Sabatini i in., 1994; Capolongo i in., 1996; Del Nozal i in., 1998). Słabo aromatyczne miody, takie jak akacjowy, rododendronowy i cytrusowy, mają niższe wartości niż silnie aromatyzowane, jak miody erikowe, spadziowe i kasztanowe (Talpay, 1989; Sabatini i in., 1994; Capolongo i in., 1996), co pokrywa się z naszymi wynikami.

Niewiele jest pomiarów naturalnej zawartości kwasu szczawiowego w miodzie (Kary, 1987; Mutinelli i in., 1997; Del Nozal i in., 2000; Bernardini i Garda, 2001). W różnych miodach stwierdzono wartości od 8 do 300 mg/kg. Jasne miody, takie jak rozmarynowy i lawendowy, mają niższą zawartość kwasu szczawiowego niż ciemne miody o mocnym smaku, takie jak spadziowy i wrzosowy (Del Nozal i in., 2000), co również pokrywa się z naszymi wynikami.

4.3. Pozostałości po obróbce z kwasem mrówkowym W innych publikacjach odporność na kwas mrówkowy

w paszy cukrowej mierzono składki po długotrwałym, 7-dniowym traktowaniu kwasem mrówkowym (Stoya i in., 1986; Krämer, 1994; Capolongo i in., 1996). W dwóch badaniach (Stoya i in., 1986; Capolongo i in., 1996) przeprowadzono kinetyczną obserwację pozostałości po zabiegu jesienią. Pozostałości mierzono przed i po zabiegu i obserwowano aż do wiosny. Po silnym początkowym wzroście stężenia kwasu mrówkowego jesienią, jego poziom wiosną spadł do wartości sprzed leczenia. We wszystkich tych badaniach nie sprawdzano, czy zawartość kwasu mrówkowego w miodzie miała istotny wpływ. Nasze wyniki pokazują, że 7-dniowa kuracja kwasem mrówkowym prowadzi do niewielkiego, ale znaczącego wzrostu zawartości kwasu mrówkowego w miodzie. Wzrost ten nie jest problematyczny, gdyż nie wpływa na jakość miodu (patrz rozdz. 4.5). Wzrosty zawartości kwasu mrówkowego były podobne we wszystkich latach doświadczenia, choć plony miodu w tych latach były różne. Uważamy, że kwas mrówkowy pozostający w cukrze w plastrach czerwiu jest główną przyczyną powstawania tych pozostałości. Takie resztki paszy są powszechne u typu szwajcarskiego

pokrzywka. W warunkach pszczelarskich w ulach magazynowych, jakie obowiązują w innych krajach, należy spodziewać się mniejszych pozostałości.

W nagłych przypadkach, gdy wiosną występuje duża inwazja roztoczy, często konieczne jest leczenie mrówką. Nasze wyniki pokazują, że wiosenne traktowanie kwasem mrówkowym może prowadzić do wzrostu zawartości kwasu mrówkowego w miodzie letnim, który jest bliski progowi smaku tego kwasu w miodzie (patrz rozdz. 4.5.2). Dlatego też w warunkach klimatu umiarkowanego kwas mrówkowy powinien być stosowany na ogół w okresie poza pożytkiem, najczęściej tuż po zbiorze miodu późnym latem.

4.4. Pozostałości po zabiegach z kwasem szczawiowym Inni badacze (Radezki, 1994;

Mutinelli i in., 1997; Del Nozal i in., 2000; Bernardini i Gardi, 2001) przeprowadzili badania pozostałości po pojedynczym traktowaniu kwasem szczawiowym i nie mogli wykryć pozostałości w paszy zawierającej cukier w porównaniu z poziomami stwierdzonymi przed zabiegami. Nasze badania przeprowadzone z miodem prowadzą do tych samych wniosków. Nawet dwa zabiegi kwasem szczawiowym jesienią nie spowodowały wzrostu stężenia kwasu szczawiowego w miodzie następnego roku.

4.5. Przepisy dotyczące pozostałości i miodu

4.5.1. Kwasowość

Zgodnie z obowiązującym rozporządzeniem UE dotyczącym miodu (2002 r.), a także zgodnie z projektem Kodeksu Żywnościowego nowej normy dla miodu (2000 r.) maksymalny limit wolnej kwasowości miodu wynosi 50 miliekwiwaleń na kg miodu.

Nasze wyniki, podobnie jak wyniki Stoya i in. (1986) wykazali, że długotrwałe leczenie kwasem mrówkowym jesienią, zgodnie z zaleceniami, nie spowoduje wzrostu kwasowości miodu powyżej wymaganego limitu.

4.5.2. Smak

Zgodnie z obowiązującymi normami dotyczącymi miodu, do miodu nie wolno dodawać substancji zmieniających jego naturalny smak. Próg smaku kwasu mrówkowego dodanego do miodu został określony dla miodów kwiatowych o łagodnym smaku i wynosił

stwierdzono, że wynosi około 300 mg/kg (Capolongo i in., 1996; Bogdanov i in., 1999a). W przypadku miodów o silniejszym smaku, takich jak miód spadziowy i kasztanowy, mieści się ona w przedziale od 600 do 800 mg/kg (Capolongo i in., 1996; Bogdanov i in., 1999a). Pozostałości po normalnym jesiennym traktowaniu kwasem mrówkowym są znacznie niższe od tych progów, stąd nie ma ryzyka zmiany smaku miodu na skutek wzrostu stężenia kwasu mrówkowego. Jednakże z naszych wyników wynika, że gdy wiosną przeprowadza się awaryjne zabiegi kwasem mrówkowym, zawartość kwasu mrówkowego w miodzie letnim może być bliska progu smaku tego kwasu. Dlatego należy unikać tego typu leczenia. Należy wziąć pod uwagę, że zbiory miodu w Szwajcarii są stosunkowo skromne (patrz rozdz. 2.2), a w ulu typu szwajcarskiego często występują drobne pozostałości jesiennych nawozów cukrowych. W krajach o większych zbiorach miodu i różnych gatunkach miodu pozostałości kwasu mrówkowego powinny być teoretycznie mniejsze.

Smak miodu zmieni się dopiero po dodaniu do miodu kwiatowego około 400 mg/kg kwasu szczawiowego lub 900 mg/kg do miodu spadziowego (Bogdanov i in., 1999a). Zabiegi kwasem szczawiowym nie powodują pozostałości kwasu szczawiowego, dlatego też nie ma absolutnie żadnego niebezpieczeństwa zmiany smaku miodu w wyniku zabiegu kwasem szczawiowym.

4.5.3. Maksymalne limity pozostałości

W przepisach UE kwas mrówkowy i składniki olejków eterycznych, takie jak tymol i mentol, są zdefiniowane jako substancje GRAS (ogólnie uznawane za bezpieczne), dlatego nie jest konieczne ustalanie MRL (Rozporządzenie UE 2796, 1995). Kwas szczawiowy jest naturalnym składnikiem większości warzyw, a jego zawartość waha się od 300 do 17 000 mg/kg, a największą zawartość ma pietruszka (Poradnik Rolniczy, 1984). Dlatego większość warzyw zawiera znacznie większe ilości kwasu szczawiowego niż miód. Biorąc pod uwagę niewielkie dzienne spożycie miodu, jego udział w całkowitym dziennym spożyciu kwasu szczawiowego jest znikomy. Z odżywczego punktu widzenia kwas szczawiowy, podobnie jak kwas mrówkowy, również powinien mieć status GRAS. Ponadto nie oczekuje się żadnych znaczących pozostałości po obróbce kwasem szczawiowym.

4.5.4. Rejestracja kwasu szczawiowego do kontroli V. destructor

Według naszej wiedzy opryskiwanie i kropłowanie kwasu szczawiowego jest dopuszczone do stosowania przeciwko V. destructor tylko w dwóch krajach Europy Zachodniej (Szwajcaria i Finlandia), ale jest szeroko stosowane przez pszczelarzy w całej Europie, ponieważ zabiegi są bardzo skuteczne. Głównym problemem rejestracyjnym leczenia kwasem szczawiowym wydaje się być toksyczność kwasu szczawiowego dla osoby stosującej leczenie. Pod warunkiem, że zostaną zachowane niezbędne środki ostrożności, nie ma ryzyka dla użytkownika podczas rozpylania i rozpryskiwania tego kwasu (Knuti, 1996). Z drugiej strony, nie oceniano toksyczności dla użytkownika niedawno opracowanej metody sublimacji kwasu szczawiowego (Radetzki i Bärmann, 2001).

Nie należy spodziewać się pozostałości kwasu szczawiowego po wielokrotnych opryskach polowych i kropłowym stosowaniu tego kwasu, dlatego nie ma obiektywnych argumentów przeciwko rejestracji tych sposobów leczenia w celu zwalczania V. destructor.

PODZIĘKOWANIE

Dziękujemy wielu szwajcarskim pszczelarzom, którzy pomogli nam w przeprowadzeniu tych prób terenowych.

Streszczenie – Oznaczanie pozostałości w miodzie po zabiegach kwasami mrówkowym i szczawiowym w warunkach polowych. Do tej pory badania pozostałości prowadzono w kontrolowanych warunkach eksperymentalnych po jednorazowym zastosowaniu kwasu mrówkowego (FA) i kwasu szczawiowego (AO). Kwasy te są obecnie regularnie stosowane w długotrwałej walce z roztoczami Varroa destructor. W związku z tym w latach 1996, 1997 i 1998 przeprowadziliśmy doświadczenia polowe z FA i AO w różnych pasiekach w Szwajcarii. W miodach z doświadczeń oraz w miodach kontrolnych z roku następnego oznaczono FA i AO oraz wolną kwasowość. W zależności od przewodności elektrycznej miody podzielono na dwie grupy różniące się zawartością naturalnych kwasów:

Od początku września do końca października przeprowadzono dwa długoterminowe zabiegi AF. W ciągu trzech lat eksperymentu mierzono następujące wzrosty stężenia FA: średnio 46, min. 0, maks. 139 mg/kg (tab. III). Wzrost ten nie jest problematyczny, ponieważ smak miodu zmienia się jedynie od 300 mg FA na kg miodu. W miarę postępu zabiegów zawartość FA w miodzie nie zwiększała się (ryc. 1).

W przypadku przeprowadzenia zabiegów ratunkowych AF wiosną, wzrost stężenia FA w miodach letnich tego samego roku był znacznie większy: średnio 193, min. 38, maks. 417 mg/kg (tab. IV). Pozostałości tego poziomu mogą zmienić smak miodu, na co nie pozwalają międzynarodowe przepisy dotyczące miodu. AO opryskiwano w okresie wolnym od czerwi, od początku listopada do końca grudnia. Nawet jeśli w tym samym okresie wykonano drugą kropłówkę, nie zaobserwowano wzrostu stężenia AO (tab. V).

Wskazane powyżej kolejne zabiegi kwasem mrówkowym i szczawiowym nie spowodowały wzrostu wolnej kwasowości miodu zebranego w kolejnym roku (tab. VI).

miód / pozostałość / kwas mrówkowy / kwas szczawiowy / wolna kwasowość / Varroa destructor

Streszczenie – Oznaczanie pozostałości w miodzie po wielokrotnym traktowaniu rodzin pszczoł kwasem mrówkowym i szczawiowym. Pozostałości kwasu mrówkowego i szczawiowego w miodzie oznaczono dotychczas w kontrolowanych warunkach, po jedynie indywidualnym zastosowaniu tych substancji przeciwko roztoczom Varroa. Obecnie kwasy te są powszechnie stosowane co roku w praktyce pszczelarskiej do zwalczania roztoczy Varroa. Dlatego w latach 1996–1998 w kilku pasiekach w Szwajcarii przeprowadzono pomiary pozostałości po wielokrotnym zastosowaniu kwasu mrówkowego i szczawiowego. W miodach testowych i kontrolnych z następnego roku oznaczono następujące parametry: kwas mrówkowy, kwas szczawiowy i kwas wolny. Na podstawie pomiaru przewodności elektrycznej miody podzielono na dwie grupy, które różnią się naturalną zawartością kwasu mrówkowego i kwasu szczawiowego:

– grupa 1: miody kwiatowe, mieszanki miodów kwiatowych i spadziowych. Kwas mrówkowy: średnia 41, min. 17, maks. 85 mg/kg. Kwas szczawiowy: średnio 25, min. 8, maks. 51 mg/kg (Tab. II), – grupa 2: miody spadziowe. Kwas mrówkowy: średnio 93, min. 42, maks. 284 mg/kg. Kwas szczawiowy: średnio 70, min. 38, maks. 119 mg/kg (tab. II).

Grupa 1, miody kwiatowe i mieszane miody kwiatowe i leśne:

Kwas mrówkowy: średnio 41, min. 17, maks. 85 mg/kg i kwas szczawiowy: 25, min. 8, maks. 51 mg/kg, (tabela II).

408

S. Bogdanow i in.

Grupa 2, miody spadziowe: kwas mrówkowy: średnio 93, min. 42, max. 284 mg/kg i kwas szczawiowy 70, min. 38, max.

W okresie od września do października przeprowadzono dwa długoterminowe zabiegi kwasem mrówkowym. W trzyletnim okresie badania zmierzono następujące wzrosty stężenia kwasu mrówkowego: średnio 46 mg/kg, min. 0, maks. 139 (tab. III). Wzrost ten nie stanowi problemu, ponieważ próg wykrywalności kwasu mrówkowego w miodzie wynosi około 300 mg/kg i nie został jeszcze osiągnięty. W miarę zwiększania się liczby lat leczenia nie obserwowano wzrostu stężenia kwasu mrówkowego (ryc. 1).

Natomiast podczas zabiegów doraźnych wiosną nastąpił znacznie większy wzrost stężenia kwasu mrówkowego: średnio 193 mg/kg, min. 38, maks. 417 (tab. IV). Tak duże wzrosty mogą prowadzić do przekroczenia progu percepcji i zmiany naturalnego smaku miodu. Nie jest to dozwolone na mocy międzynarodowych przepisów dotyczących miodu.

Zabiegi kwasem szczawiowym (opryski) prowadzono w stanie bezczerwonym od listopada do grudnia przez 3 lata. Nie stwierdzono wzrostu poziomu kwasu szczawiowego w miodzie, nawet jeśli w tym samym okresie przeprowadzono drugi zabieg polewania (tab. V). Kolejne jesienne zabiegi kwasem mrówkowym i szczawiowym nie powodują zwiększenia kwasowości przyszłorocznego miodu (tab. VI).

Miód / pozostałość / kwas mrówkowy / kwas szczawiowy / wolny kwas / Varroa destructor

REFERENCJE

Podręcznik rolniczy (1984) nr 8–11, Warzywa i produkty warzywne, w: Haytowitz D., Matthews R. (red.), Human Nutrition Information Service, Nutrition Monitoring Division, USDA, Washington DC, 502 s.

Bogdanow S., Kilchenmanna V., Imdorf A. (1998b) Pozostałości roztoczebójcze w niektórych produktach pszczelich, J. Apic. Rozdzielczość 3, 57–67.

Bogdanow S., Kilchenmanna V., Grypa P., Bühler U., Lavanchy P. (1999a) Wpływ kwasów organicznych i składników olejków eterycznych na smak miodu, Am. Pszczoła J. 139, 61–63.

Bogdanov S. i 21 innych członków IHC (1999b) Jakość miodu, metody analizy i międzynarodowe standardy regulacyjne: przegląd prac Międzynarodowej Komisji ds. Miodu, Mitt. Lebensm. Hyg. 90, 108–125.

Böhringer Mannheim (1997) Metody z Enzymatyczny BioAnaliza i analiza żywności, Oznaczanie kwasu szczawiowego, s. 114–117.

Capolongo F., Baggio A., Piro R., Schivo A., Mutinelli F., Sabatini AG, Colombo R., Marazzan GL, Massi S., Nanetti A. (1996) Leczenie warrozy kwasem mrówkowym: akumulacja w miodzie i wpływ na jej cechy, Nasza Przyjazna Pszczółka 18, 4–11.

Charrière JD, Imdorf A., Bachofen B. (1998a) Fünf Dozownik kwasu mrówkowego JesterPorównanie, Szwajcaria.

Gazeta Pszczółka 121, 363–367. Charrière JD, Imdorf A., Fluri P. (1998b) Co można zrobić poprzez the Aplikacja the Kwas szczawiowy przeciwko Varroa oczekiwany stać się?, Szwajcaria. Gazeta Pszczół 121, 503–506. Codex Alimentarius (2000) Alinorm 01/25, Projekt zmienionej normy dla miodu na etapie 8 procedury Kodeksu. Del Nozal MJ, Bernal JL, Marinero P., Diego JC,

Frechilla JL, Higes M., Llorente J. (1998) Wysokosprawna chromatografia cieczowa oznaczanie kwasów organicznych w miodach różnego pochodzenia botanicznego, J. Liq. Chromatogr. Dotyczy. Techn. 21, 3197–3214. Del Nozal MJ, Bernal JL, Diego JC, Gomez Los Angeles, Ruiz

JM, Higes M. (2000) Oznaczanie szczawianów, siarczanów i azotanów w miodzie i spadzi metodą chromatografii jonowej, J. Chromatogr. A 881, 629–638.

Echigo T., Takenaka T. (1974) Produkcja kwasów organicznych w miodzie przez pszczoły miodne, J. Agric. Chem. Towarzystwo Jap. 48, 225–230.

Rada UE (2002) Dyrektywa Rady 2001/110/WE z dnia 20 grudnia 2001 r. odnosząca się do miodu. Dziennik Urzędowy Wspólnot Europejskich L10, s. 47–52. Dostępne pod adresem: http://europa.eu.int/eur-lex/pri/en/oj/dat/2002/l_010/

Barbattini R., Greatti M., D'Agaro M., Sabatini AG, Colombo R., Marcazzan GL (1994) Zastosowanie kwasu mrówkowego w walce z *Varroa jacobsoni*: weryfikacja skuteczności i pozostałości w miodzie, L 'Nasz przyjaciel pszczoła 16, 4–9.

Bernardini M., Gardi T. (2001) Wpływ zabiegów roztoczbójczych w zwalczaniu warrozy na jakość miodu i wosku pszczelego, Apitalia 28, 21–24.

Bogdanov S., Martin P., Lüllmann C. (1997) Zharmonizowane metody z the europejski Miód zamawiać, Apidologie (wydanie dodatkowe), 1–59. Bogdanov S., Imdorf A., Kilchenmann V. (1998a) Resi-opłaty za wosk i miód po zabiegu Apilife VAR, Apidologie 29, 513–524.

I_01020020112en00470052.pdf (zweryfikowane 24 maja 2002 r.).

UE (1995) Rozporządzenie komisji 2796, dotyczące ustalania wartości MRL leków weterynaryjnych, Dziennik Urzędowy UE nr 290, Bruxelles, Belgia.

UE (1999) Rozporządzenie Rady nr 1804 w sprawie rolnictwa ekologicznego, rozdział Pszczelarstwo i produkty pszczelarskie. Dziennik Urzędowy Wspólnot Europejskich z dnia 19 lipca 1999 r., L 222, C. Bruxelles, Belgia. Dostępne pod adresem: http://europa.eu.int/eur-lex/pri/en/oj/dat/1999/l_222/l_22219990824en00010028.pdf (zweryfikowane 24 maja 2002 r.).

Hansen H., Guldberg M. (1988) Pozostałości w miodzie i wosku po traktowaniu rodzin pszczoł kwasem mrówkowym, Tidsskr. Roślina 92, 7–10.

Kary I. (1987) Badania problemu pozostałości w miodzie pszczelim w kontekście zwalczania warrozy, rozprawa doktorska, Giessen, Niemcy.

Knutti R. (1996) Kwas szczawiowy w walce z warrozą - zagrożenie dla pszczelarzy?, Szwajcaria. Gazeta Pszczela 119, 508.

Krämer K. (1994) Zwalczanie warrozy w rodzinach pszczoł pod używać von 85% iger kwas mrówkowy, Bienenwelt 36, 214–218.

Imdorf A., Charrière JD (1998) Jak Móc umierać odporne roztocza Varroa są utrzymywane poniżej progu uszkodzeń?, Szwajcaria. Gazeta Pszczela 121, 287–291. Imdorf A., Bogdanov S., Ibanez Ochoa R., Calderone N.

(1999) Zastosowanie olejków eterycznych do zwalczania *Varroa jacobsoni* (Oud.) w koloniach pszczoł miodnych, Apidologie 30, 209–228.

Liebig G. (1997) Alternatywne zwalczanie Varroa. Czy kwasy organiczne wyszły z kryzysu?, Bienenwelt 39, 289–297.

Milani N. (1999) Odporność *Varroa jacobsoni* Oudemans do akarycydów, Apidologie 30, 229–234. Mutinelli F., Baggio A., Capolongo F., Piro R., Prandin L., Biaisson L. (1997) Nota naukowa dotycząca kwasu szczawiowego do stosowania miejscowego w celu zwalczania war-

Apidologia 28, 461–462. Nanetti A., Stradi G. (1997) Roztwór cukru kwasu szczawiowego Kontrola Varroa, ogólnie niemiecki. Pszczelarstwo 31:9-11.

Radetzki T. (1994) Kwas szczawiowy, inny kwas organiczny do leczenia Varroa, General Dtsch. Pszczelarstwo 28, 11-15.

Radetzki T., Bärmann M. (2001) Proces odparowania z kwasem szczawiowym. Próba terenowa na 1509 koloniach w 2000 r., generał niemiecki. Pszczelarstwo 35, 20-23.

Radtke J., Hedtke C. (1998) Zawartość kwasu mrówkowego i wolnych kwasów w miodzie po letnim traktowaniu kwasem mrówkowym, Apidologie 29, 404–406.

Sabatini AG, Marcazzan GL, Colombo R., Garagnani M. (1994) Zastosowanie metody enzymatycznej do oznaczania kwasu mrówkowego i kwasu mlekowego obecnego w miodzie, Apicoltura 9, 135–145.

Stoya W., Wachendörfer G., Kary I., Siebentritt P., Kaiser E. (1986) Kwas mrówkowy jako środek terapeutyczny przeciwko warrozie i jej wpływ na miód, German Food-Rundsch. 82, 217-221.

Talpay B. (1989) Składniki kwasu miodowo-mrówkowego (Formiat), Niemiecki Okólnik żywnościowy 85, 143–147.

Unterweger H., Wacha C., Bandion F. (2001) Oznaczanie kwasu szczawiowego w miodzie za pomocą GC - MS (SIM), Nutrition 25, 111–115.

Wallner K. (1999) Warrokwasy i ich pozostałości u pszczoł produktów, Apidologie 30, 235–248.

Aby uzyskać dostęp do tego czasopisma online:

www.edpsciences.org

[Zobacz statystyki publikacji](#)