

*Anna Śliwińska, Grzegorz Bazylak*

## WSTĘPNA OCENA JAKOŚCI MIODÓW PSZCZELICH NA PODSTAWIE WYBRANYCH PARAMETRÓW FIZYKOCHEMICZNYCH I MIKROBIOLOGICZNYCH

Katedra i Zakład Bromatologii Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum  
im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu  
Kierownik: prof. nadzw. dr hab. *G. Bazylak*

*Celem badań było dokonanie jakościowej oceny wybranych miodów pszczelich dostępnych w bydgoskich hipermarketach, sieci sklepów pszczelarskich oraz pozyskanych bezpośrednio od pszczelarzy. Przeprowadzone badania obejmowały analizę organoleptyczną, oznaczenie zawartości proliny oraz liczby diastazowej. W dwóch spośród trzynastu badanych próbek miodów wykazano, iż zawartość proliny jest mniejsza od zalecanej w normie wartości 25 mg/100 g, co może świadczyć o zafalszowaniu miodu. Miody te charakteryzowały się również obniżoną liczbą diastazową, która była mniejsza od wymaganej minimalnej wartości 8,3. Wykazano, że zawartość proliny (68,55 mg/100 g) oraz liczba diastazowa (29,4) jest największa w miodzie lipowym pozyskanym bezpośrednio z pasieki przydomowej. Dodatkowo przeprowadzono również analizę mikrobiologiczną, która obejmowała oznaczenie liczby drobnoustrojów tlenowych oraz liczby drożdży i pleśni. Stwierdzono, iż najwyższym stopniem kontaminacji drobnoustrojami tlenowymi charakteryzował się pochodzący z Unii Europejskiej miód wielokwiatowy kremowy ( $7,0 \times 10^5$  cfu/g), a najniższym pochodzący z Polski miód faceliowy i spadziowy ( $<10$  cfu/g). We wszystkich analizowanych miodach liczba drożdży i pleśni była niewielka i wynosiła mniej niż 10 cfu/g.*

Hasła kluczowe: miód, liczba diastazowa, prolina, analiza mikrobiologiczna.

Key words: honey, diastase number, proline, microbiological analysis.

Miód pszczeli posiada cenne właściwości odżywcze i lecznicze, które wynikają z jego zróżnicowanego składu chemicznego. Skład miodu zależy przede wszystkim od gatunku rośliny, z której pszczoły (*Apis mellifera*) zbierają nektar lub spadź (1). W miodach nektarowych i spadziowych dominują węglowodany, a w szczególności glukoza i fruktoza, dzięki którym miód jest produktem łatwo przyswajalny przez organizm ludzki, poprawiając jego kondycję psychiczną i fizyczną. Miód zawiera ponad 300 rozmaitych związków, w tym wodę, kwasy organiczne, olejki eteryczne, witaminy, makro- i mikroelementy oraz białka i wolne aminokwasy, wśród których

dominuje prolina. W miodach zidentyfikowano również enzymy takie, jak: diastaza, invertaza, katalaza, fosfataza oraz oksydaza glukozy, która jest odpowiedzialna za właściwości antybiotyczne miodu (2, 3).

Jakość miodu pszczelego zależy przede wszystkim od umiejętności i kwalifikacji pszczelarzy, którzy odpowiadają za sposób odbierania, konfekcjonowania i przetwarzania miodu (4). Ważne jest również przechowywanie miodu w odpowiednich warunkach. W miodzie ogrzonym wzrasta zawartość 5-hydroksymetylofurfuralu HMF (3-5). Miód zafalszowany posiada również mniej proliny oraz charakteryzuje się zaniżoną liczbą diastazową w porównaniu z miodem dobrej jakości. Jakość miodu określa również jego profil mikrobiologiczny (3, 6). Jednakże w europejskim i polskim ustawodawstwie nie określono wyczerpująco i jednoznacznie norm, jakimi powinien charakteryzować się miód pod względem kontaminacji drobnoustrojami. Wyniki kontroli jakości handlowej miodów, która została przeprowadzona przez Inspekcję Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych w 2010 roku wykazały znaczne nieprawidłowości dotyczące parametrów fizykochemicznych oferowanego w Polsce miodu, które zaobserwowano w przypadku 32 % partii objętych kontrolą, a liczba zakwestionowanych partii miodu była prawie 5-krotnie wyższa niż w roku 2009, co świadczy o postępującym pogarszaniu się jakości miodów w porównaniu z poprzednimi latami (7).

Celem podjętych w przedstawionej w pracy badań była wstępna ocena jakości miodów oferowanych na terenie miasta Bydgoszczy oraz sprawdzenie czy wybrane parametry świadczące o jakości miodu spełniają wymagania polskiego ustawodawstwa.

## MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły próbki 13 miodów pszczelich zakupionych w bydgoskich hipermarketach, sieci sklepów pszczelarskich oraz pozyskanych bezpośrednio od pszczelarzy w okresie jesienno-zimowym 2010/11. Ocenie organoleptycznej poddano: barwę, konsystencję, smak i zapach miodu (tab. I). W analizowanych miodach oznaczono w trzech powtórzeniach zawartość proliny metodą spektrofotometryczną (8), a wyniki zamieszczono w tabeli III. Liczbę diastazową oznaczono metodą inkubacji w 40°C wg Polskiej Normy (8) na podstawie stopnia hydrolizy skrobi przez znajdującą się w miodzie  $\alpha$ -amylazę. Przeprowadzone badania obejmowały również oznaczenie liczby drobnoustrojów tlenowych (9) oraz drożdży i pleśni (10). Wyniki analiz mikrobiologicznych wyrażono w cfu/g (ang. colony forming units per gram; jednostka tworząca kolonię). Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą programu Statistica 8.0 (StatSoft).

Tabela I. Charakterystyka badanych miodów

Table I. Characteristic of studied honeys

Lp.	Odmiana miodu /symbol	Pochodzenie	Producent	Data zakupu / partia
1	Lipowy (M1)	PL	Gospodarstwo Pasieczne, Stróże, małopolskie	27.09.2010
2	Lipowy (M2)	PL	Pasieka przydomowa, Łaszewo, kujawsko-pomorskie	6.09.2010
3	Akacjowy (M7)	PL	Gospodarstwo Pasieczne, Stróże, małopolskie	31.12.2010
4	Akacjowy (M8)	UE	Gospodarstwo Pasieczne, Stróże, małopolskie	3.01.2011
5	Gryczany (M9)	UE	Gospodarstwo Pasieczne, Stróże, małopolskie	31.12.2010/A
6	Gryczany (M10)	UE	Gospodarstwo Pasieczne, Stróże, małopolskie	3.01.2011/B
7	Wrzosowy (M5)	PL	Gospodarstwo Pasieczne, Stróże, małopolskie	14.12. 2010
8	Spadziowy (M6)	PL	Gospodarstwo Pasieczne, Stróże, małopolskie	14.12. 2010
9	Faceliowy (M11)	PL	Pasieki Nadnoteckie, Sadki, kujawsko-pomorskie	13.01.2011
10	Rzepakowy (M13)	PL	Dystrybutor miodu, Baćkowie, świętokrzyskie	7.01. 2011
11	Wielokwiatowy (M3)	UE+	Dystrybutor miodu, Nowy Sącz, małopolskie	8.11. 2010
12	Wielokwiatowy (M4)	UE+	Dystrybutor miodu, Warszawa, mazowieckie	28.12. 2010
13	Wielokwiatowy (M14)	UE+	Sieć sklepów, Neckarsulm, Niemcy	15.11.2010

PL – miód pochodzący z Polski, UE – miód pochodzący z państw członkowskich Unii Europejskiej, UE+ - miód pochodzący z państw członkowskich Unii Europejskiej i spoza Unii.

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Badania organoleptyczne obejmowały sprawdzenie: barwy, konsystencji, smaku i zapachu oraz umożliwiły wstępne i orientacyjne określenie, czy analizowane miody odpowiadają wstępnym wymaganiom niezbędnych do dalszych badań fizykochemicznych (tab. II). Wszystkie z analizowanych miodów spełniały wymagania organoleptyczne określone w normie PN-88/A-77626 (8).

Analizowane miody charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością proliny (tab. III). Wg normy krajowej (8) aminokwasu tego nie powinno być w miodzie mniej niż 25 mg/100 g. Najmniej proliny zawierał miód rzepakowy M13 (17,01 mg/100 g), a najwięcej miód lipowy M2 (68,55 mg/100 g). Zaniżoną zawartość proliny zaobserwowano również w przypadku miodu akacjowego M7 (23,8 mg/100 g). W grupie miodów o znacznej zawartości proliny znalazło się 6 miodów: lipowy M2 (68,55 mg/100 g), wrzosowy M5 (63,83 mg/100 g), spadziowy M6 (55,76 mg/100 g), gryczany M10 (42,25 mg/100 g), faceliowy M11 (49,63 mg/100 g) i wielokwiatowy M14 (56,2 mg/100 g). Średnia zawartość proliny w 13 analizowanych miodach wynosiła 41,91 mg/100 g.

Tabela II. Właściwości organoleptyczne badanych miodów

Table II. Organoleptic properties of studied honeys

Lp.	Odmiana miodu /symbol	Barwa	Konsystencja	Smak	Zapach
1	Lipowy (M1)	jasnobursztynowa	gęsta ciecz	słodki	silny
2	Lipowy (M2)	żółta	mazista	słodki, ostry	bardzo silny
3	Akacjowy (M7)	jasnokremowa	gęsta ciecz	słodki	słaby
4	Akacjowy (M8)	jasnokremowa	gęsta ciecz	słodki	słaby
5	Gryczany (M9)	brunatny	gruboziarnista z cienką warstwą płynną na powierzchni	ostry	bardzo silny
6	Gryczany (M10)	brunatny	gruboziarnista	ostry	bardzo silny
7	Wrzosowy (M5)	czerwonobrunatna	galaretkowata	gorzki, ostry	silny
8	Spadziowy (M6)	brązowa	gęsta ciecz	łagodny	korzenny
9	Faceliowy (M11)	jasnokremowa	mazista	łagodny	słaby
10	Rzepakowy (M13)	słomkowa	gęsta ciecz	słodki	słaby
11	Wielokwiatowy (M3)	jasnożółta	średnioziarnista	słodki, łagodny	silny
12	Wielokwiatowy (M4)	herbaciana	gęsta ciecz	słodki, gorzki posmak	silny
13	Wielokwiatowy (M14)	żółta	kremowa	słodki	silny

Zawartość proliny poniżej w/w średniej oznaczono w przypadku miodu lipowego M1 (28,48 mg/100 g), wielokwiatowego M3 i M4 (odpowiednio 38,48 i 33,08 mg/100 g), akacjowego M7 i M8 (odpowiednio 23,8 i 26,25 mg/100 g), gryczanego M9 (41,56 mg/100 g) i rzepakowego M13 (17,01 mg/100 g). Wynik zbliżony do średniej uzyskano w obu badanych miodach gryczanych M9 i M10 (odpowiednio 41,56 i 42,25 mg/100 g).

Warto zauważyć, że zróżnicowane wyniki ( $p < 0,05$ ) uzyskano również w obrębie tej samej odmiany miodu, co może świadczyć o różnorodnych warunkach pozyskiwania i przechowywania tego miodu. Zawartość proliny w miodzie lipowym wahała się od 28,48 do 68,55 mg/100 g, a w miodzie wielokwiatowym od 33,08 do 56,20 mg/100 g miodu. Różnice w zawartości proliny zaobserwowano również w grupie miodów akacjowych i gryczanych (tab. III), jednakże były one nieznaczne ( $p > 0,05$ ). *Majewska* i współpr. (4) oznaczyli prolinę w ilości od 47,2 do 93,4 mg/100 g w miodach wielokwiatowych pochodzących z różnych regionów Polski. W badaniach tych tylko dwie próbki miodu z regionu Pomorza charakteryzowała zawartość proliny (odpowiednio 47,2 i 47,9 mg/100 g) zbliżona do średniej zawartości tego aminokwasu obserwowanej w naszych badaniach (czyli 41,91 mg/100 g). W kolejnej pracy *Majewska* (11) oznaczyła również zawartość

proliny w miodzie jedwabnym i tzw. miodzie Romerillo, która wyniosła odpowiednio 16,7 i 21,6 mg/100 g. Wysoką zawartość proliny (143 mg/100 g) stwierdzono także w miodach spadziowych badanych przez *Bogdanova* (2).

Liczba diastazowa świadczy o aktywności amylolitycznej miodu (12,13). Jej zaniżona wartość może wskazywać na zafałszowanie miodu. Wg Polskiej Normy (8) nie powinna być niższa niż 8,3, a wg aktualnie obowiązującego Rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (14) nie mniejsza niż 8. Najwyższą liczbą diastazową (czyli 29,4), charakteryzował się miód lipowy M2, a najniższą (czyli 3,7) miód rzepakowy M13. W przypadku miodu rzepakowego M13 wartość liczby diastazowej wyznaczoną zgodnie z metodą podaną w normie (8) zweryfikowano dodatkowo metodą spektrofotometryczną według *Bogdanova* i współpr. (14) uzyskując identyczny wynik. Warto również dodać, iż spośród analizowanych miodów, miód rzepakowy M13 i miód akacjowy M7 charakteryzuje nie tylko najmniejsza liczba diastazowa (odpowiednio 3,7 i 6,5) ale również najmniejsza zawartość proliny (odpowiednio 17,07 mg/100 g i 23,8 mg/100 g). Obydwa wspomniane parametry stanowią łącznie ważne kryterium oceny stopnia zafałszowania miodu (5). *Boukraa* i współpr. (15) oznaczyli spektrofotometrycznie liczbę diastazową w pięciu algierskich miodach na poziomie od 13,1 do 26,1. Natomiast *Serrano* i współpr. (13) analizowali 49 próbek miodu z regionu Andaluzji (Hiszpania) stwierdzając najwyższą wartość liczby diastazowej w przypadku miodu eukaliptusowego (49,42), a najniższą dla miodu cytrusowego (3,99). Wśród nektarowych miodów analizowanych przez *Serrano* i współpr. (13) znajdowały się również miody wielokwiatowe, które odznaczały się wartościami liczby diastazowej od 6,05 do 40,89. W badanych w 2010 r. partiach miodu wielokwiatowego i akacjowego dostępnych na rynku w Polsce także stwierdzono ostatnio przypadki występowania produktów o zbyt niskiej wartości (< 8,3) liczby diastazowej (7).

W europejskim i polskim ustawodawstwie nie określono jednoznacznie i wyczerpująco wymagań, jakie powinien spełniać miód pod względem czystości mikrobiologicznej (3, 8-10). Jednakże prowadzone są liczne badania nad profilem mikrobiologicznym miodów, które obejmują oznaczenie ogólnej liczby drobnoustrojów tlenowych, drożdży i pleśni, jak również wykrywanie *Bacillus spp.*, *Clostridium spp.* i *Salmonella spp.* (3, 6). W przeprowadzonych przez nas badaniach najwyższym stopniem kontaminacji drobnoustrojami tlenowymi charakteryzował się miód wielokwiatowy M14 ( $7,0 \times 10^2$  cfu/g), a najmniejszym miód spadziowy M6 i faceliowy M11 (<10 cfu/g) (tab. III).

Identyczny jak w badanych przez nas miodach spadziowym i faceliowym stopień kontaminacji drobnoustrojami wykazała *Gomes* i współpr. (3) analizując miody dostępne na rynku portugalskim. Natomiast *Iurlina* i *Fritz* (6) analizując miody argentyńskie oznaczyły liczbę drobnoustrojów tlenowych w zakresie od  $3,0 \times 10^1$  do  $12,0 \times 10^2$  cfu/g. Analizowane w naszej pracy miody charakteryzowały się bardzo niskim stopniem kontaminacji pleśniami i drożdżami, który wynosił <10 cfu/g (tab. III).

Tabela III. Parametry fizykochemiczne i mikrobiologiczne badanych miodów

Table III. Physicochemical and microbiological parameters of studied honeys

Lp.	Odmiana miodu /symbol	Średnia ( $\pm$ SD) zawartość proliny (mg/100 g)	Liczba diastazowa	Liczba drobnoustrojów tlenowych (cfu/g)	Liczba drożdży i pleśni (cfu/g)
1	Lipowy (M1)	28,48 $\pm$ 0,61	6,5	2,4 $\times$ 10 <sup>2</sup>	<10
2	Lipowy (M2)	68,55 $\pm$ 0,05	29,4	1,0 $\times$ 10 <sup>2</sup>	<10
3	Akacjowy (M7)	23,80 $\pm$ 1,56	6,5	2,0 $\times$ 10 <sup>1</sup>	<10
4	Akacjowy (M8)	26,25 $\pm$ 0,54	17,9	1,6 $\times$ 10 <sup>2</sup>	<10
5	Gryczany (M9)	41,56 $\pm$ 1,52	10,9	3,0 $\times$ 10 <sup>2</sup>	<10
6	Gryczany (M10)	42,25 $\pm$ 0,98	8,3	1,5 $\times$ 10 <sup>2</sup>	<10
7	Wrzosowy (M5)	63,83 $\pm$ 1,89	17,9	8,0 $\times$ 10 <sup>1</sup>	<10
8	Spadziowy (M6)	55,76 $\pm$ 1,85	13,9	<10	<10
9	Faceliowy (M11)	49,63 $\pm$ 0,67	17,9	<10	<10
10	Rzepakowy (M13)	17,01 $\pm$ 0,78	3,7	5,0 $\times$ 10 <sup>1</sup>	<10
11	Wielokwiatowy (M3)	38,48 $\pm$ 0,10	17,9	1,2 $\times$ 10 <sup>2</sup>	<10
12	Wielokwiatowy (M4)	33,08 $\pm$ 0,94	5,0	7,7 $\times$ 10 <sup>1</sup>	<10
13	Wielokwiatowy (M14)	56,20 $\pm$ 1,01	10,9	7,0 $\times$ 10 <sup>2</sup>	<10
Średnia ze wszystkich wyników analiz:		41,91	12,8	1,6 $\times$ 10 <sup>2</sup>	<10

Analogiczny stopień zanieczyszczeń stwierdziła *Gomes* i współpr. (3) w 40% przebadanych próbek miodów portugalskich. Stopień kontaminacji pozostałych 60% próbek wynosił od  $1,1 \times 10^1$  do  $2,2 \times 10^1$  cfu/g.

## WNIOSKI

1. Jakość miodów odmianowych dostępnych na polskim rynku jest bardzo zróżnicowana. Nie wszystkie spełniają wymagania określone w Polskiej Normie i obowiązującym Rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z 2004 r. (16).

2. Miody należące do jednej odmiany są bardzo zróżnicowane pod względem badanych przez nas parametrów fizykochemicznych, co może świadczyć o

nieprzestrzeganiu wymagań określających proces pozyskiwania i zasady przechowywania miodu.

3. Niska zawartość proliny i obniżona liczba diastazowa w pochodzących z Polski próbkach miodu akacjowego i rzepakowego może być związana z pozyskiwaniem i przechowywaniem tych miodów przez producenta lub dystrybutora w podwyższonej temperaturze.

4. Ogólnie biorąc badane próbki miodów odmianowych dostarczonych z Polski charakteryzowały się istotnie wyższą ( $p < 0,05$ ) zawartością proliny niż miody pochodzące z państw członkowskich Unii Europejskiej i spoza UE.

A. Śliwińska, G. Bazylak

#### EVALUATION OF HONEY QUALITY WITH USE OF SELECTED PHYSICOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL PARAMETERS

##### Summary

The aim of study was evaluate the quality of commercially available uni- and multifloral honey samples obtained from supermarkets, apitherapy stores and local beekeepers in Bydgoszcz. The organoleptic properties, proline content and diastase activity have been determined along with their microbiological examination for numbers of aerobic mesophilic bacteria and total moulds and yeasts in the 13 variable honey samples. The proline content was below required concentration of 25 mg/100 g in the two studied types of honey (acacia and ripe) originated from Poland. For the same honeys as well for the lime and multifloral type of honeys supplied from the non-defined European Union (UE) countries reduced values of diastase activity ( $< 8.3$ ) have been determined, suggesting the non-authentic origin of these four honey types. The highest number of aerobic mesophilic bacteria ( $7.0 \times 10^2$  cfu/g) was obtained for one multifloral sample of mixed honeys from the UE and outside of the UE area suppliers. However, in the all analyzed here honey samples the numbers of total moulds and yeasts were less than 10 cfu/g.

##### PIŚMIENNICTWO

1. *Ball D.W.*: The chemical composition of honey. *J. Chem. Educ.*, 2007; 84: 1643-1646. -2. *Bogdanov S.*: Nature and origin of antibacterial substances in honey. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 1997; 30: 748-753. -3. *Gomes S., Dias L.G., Moreira L.L., Rodrigues P., Estevinho L.*: Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food Chem. Toxicol.*, 2010; 48: 544-548. -4. *Majewska E., Kowalska J., Jezewska A.*: Charakterystyka jakości miodów wielokwiatowych z różnych regionów Polski. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2010; 43(3): 391-397. -5. *Nanda V., Bera M.B., Bakhshi A.K.*: Optimization of the process parameters to establish the quality attributes of hydroxymethylfurfural content and diastatic activity of sunflower (*Helianthus annuus*) honey using response surface methodology. *Eur. Food Res. Technol.*, 2006; 222:64-70. -6. *Iurlina M.O., Fritz R.*: Characterization of microorganism in Argentinian honeys from different sources. *Int. J. Food Microbiol.*, 2005; 105: 297-304. -7. Inspekcja Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych: Informacja zbiorcza o wynikach kontroli doraźnej w zakresie jakości handlowej miodu z dn. 11.02.2011 r. <http://www.ijhar-s.gov.pl/>. -8. Polska Norma PN-88/A-77626: Miód Pszczeli. -9. Polska Norma PN-EN ISO 4833: Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Metoda płytkowa w temperaturze 30°C. -10. Polska Norma PN ISO 21527-2: Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drożdży i pleśni. Część II: Metoda liczenia kolonii w produktach o aktywności wody niższej lub równej 0,95.

11. *Majewska E.*: Porównanie wybranych właściwości miodów pszczelich jasnych i ciemnych. *Nauka Przyroda Technologie*, 2009; 3(4): 1-9. -12. *Vorlova L., Pridal A.*: Invertase and diastase activity in honeys of Czech Provenience. *Acta Univ. Agric. et Silv. Mendel. Brun.*, 2002; 50(5): 57-66. -13. *Serrano S., Espejo R., Villarejo M., Jodral M.J.*: Diastase and invertase activities in Andalusian honeys. *Int. J. Food. Sci. Technol.*, 2007; 42: 76-79. -14. *Bogdanov S., Martin P., Lullmann C.*: Harmonized methods of the European Honey Commission. *Adipologie Suppl.*, 1997, 1-59. -15. *Boukraa L., Benbarek H., Ahmed M.*: Synergistic action of starch and honey against *Aspergillus niger* in correlation with diastase number. *Mycoses*, 2008; 51:520-522. -16. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 18.02.2004 r. w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej miodu. (Dz.U.04.40.370).

Adres: 85-067 Bydgoszcz, ul. Jagiellońska 13.