



CONTRIBUȚII LA STUDIUL ÎMBUNĂȚĂȚIRII INDICATORILOR DE CALITATE AI MIERII DE ALBINE UTILIZÂND TEHNICI DE MODELARE MATEMATICĂ

Teză destinată obținerii titlului științific de doctor inginer
la

Universitatea “Politehnică” din Timișoara
în domeniul Inginerie Chimică

- rezumat -

Conducător științific:

Prof. Dr. Ing. Delia Maria PERJU

Doctorand:

Ing. Monica Cristina CARA

2012

CUPRINSUL TEZEI

INTRODUCERE	4
OBIECTIVELE GENERALE ALE LUCRĂRII	9
1. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII ÎN DOMENIU	10
1.1. Istoricul mierii	10
1.2. Istoria apiculturii în România	10
1.3. Albinele	12
1.3.1. Albinele și flora	12
1.3.2. Viața în stup	13
1.3.3. Principale rase de albine	13
1.3.4. Bolile albinelor	14
1.4. Mierea – produs final	15
1.4.1. Mierea și produsele ei	15
1.4.1.1. Polenul	15
1.4.1.2. Ceara	16
1.4.1.3. Apilarnil	18
1.4.1.4. Pastura	19
1.4.1.5. Propolis	20
1.4.1.6. Lăptișor de matcă	21
1.4.1.7. Veninul	23
1.4.2. Clasificarea mierii	27
1.4.3. Tipuri de miere	28
1.4.4. Mierea și beneficiile ei terapeutice	38
1.4.5. Proprietățile mierii	39
1.4.5.1. Proprietăți fizice ale mierii	39
1.4.5.2. Proprietăți chimice	39
1.4.6. Tehnologia recoltării și extracției mierii	42
1.4.6.1. Modul de execuție	42
1.4.6.2. Echipamente folosite în apicultură la extracția mierii	44
1.4.6.3. Transformări ale mierii	45
1.5. Sinteza principalelor legi, hotărâri și reglementări naționale și internaționale privind domeniul apiculturii	47
1.6. Indicatori de calitate a mierii	50
1.6.1. Calitatea organoleptică	51
1.6.2. Calitatea fizico – chimică	52
1.6.3. Calitatea igienică	52
1.6.4. Defectele și falsificarea mierii	59
1.6.5. Metode de examinare și analiză a mierii	60
1.6.6. Metode uzuale de depistare a mierii falsificate	64
1.7. Generalități asupra tehnicilor de modelare și simulare numerică	68

1.7.1. Considerații generale	68
1.7.2. Modele statistice	72
1.7.2.1 Elementele matematice ale modelării statistice	72
1.7.3. Noțiuni generale de simulare numerică	79
2. STUDII EXPERIMENTALE	81
2.1. Obiectivele părții experimentale	87
2.2. Direcțiile de cercetare abordate	88
2.2.1 Tehnica de abordare a cercetărilor experimentale	88
2.2.2. Metode experimentale, materiale de lucru, echipamente și aparatură	89
2. 3. Studii efectuate în cadrul direcțiilor de cercetare propuse	97
2. 3.A Determinarea gradului de poluare cu reziduuri de tetraciclină și streptomicină în raport cu zona geografică	97
2.3.B Monitorizarea conținutului de reziduuri de antibiotice prin determinarea concentrației de tetraciclină și streptomicină din trei sorturi de miere în județul Timiș	117
2.3.C Studiul stabilității limitei concentrației reziduurilor de tetraciclină în mierea de albine în funcție de timp și în funcție de sortul de miere	135
2.3.D Studiul stabilității limitei concentrației reziduurilor de streptomicină în mierea de albine în funcție de timp și de temperatură	154
2.3.E Studiul comparativ al metodelor de detectare screening, respectiv de confirmare a concentrației reziduurilor de streptomicină din mierea de albine	161
2.3.F Stabilitatea concentrației reziduurilor de tetraciclină și streptomicină în trei sorturi de miere în condiții diferite de temperatură	179
3. CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE	193
4. BIBLIOGRAFIE	201

Evoluția noilor metode de analiză și a echipamentelor de laborator de înaltă performanță, a determinat Uniunea Europeană și comisiile internaționale de specialitate ale F.A.O., O.M.S., Codex Alimentarius și Comisia pentru Alimentație, să impună noi condiții de garanție a produselor alimentare, ceea ce presupune respectarea unor cerințe foarte stricte de calitate.

Contextul esențial al lucrării este legat direct de problemele actuale privind analiza calității mierii de albine de pe piața românească. Îmbunătățirea calității produselor reprezintă o problemă deosebit de importantă în condițiile economiei moderne. Calitatea produselor alimentare este impusă de Comunitatea Europeană prin norme importante privind realizarea unor produse alimentare de calitate superioară și cu proprietăți senzoriale care să satisfacă exigențele consumatorilor. Pentru realizarea acestora este necesar ca specialiștii din industria alimentară să cunoască toate pârgھیile prin care pot acționa în scopul îmbunătățirii calității produselor. Calitatea unui produs alimentar reprezintă o problemă complexă, de care depinde acceptarea sau respingerea lui de către consumator.

În urma tratamentelor aplicate albinelor, reziduurile de antibiotice pot să apară în miere dacă nu se respectă perioada de descompunere sau dacă medicamentul nu este administrat corect.

Prezența tetraciclinei (TC) în miere poate cauza efecte dăunătoare asupra consumatorilor, prin reacții alergice, leziuni hepatice, îngălbenirea dinților și tulburări gastro-intestinale ca urmare a acțiunii antibioticelor asupra microflorei intestinale. Concentrațiile ridicate de streptomycină au efecte ototoxice și nefrotoxice, iar în concentrație scăzută, pot cauza alergii și dezechilibre ale florei intestinale.

Prezența reziduurilor de antibiotice în miere este o problemă de sănătate publică, de aceea pentru a proteja consumatorul este necesar ca administrarea substanțelor antimicrobiene să se facă cu mare strictețe.

Monitorizarea reziduurilor de antibiotice este indispensabilă, recoltarea de probe efectuându-se în scop bine determinat în cadrul unui control oficial, în vederea verificării siguranței produsului și respectiv a conformității alimentului cu criteriile de siguranță prevăzute de legislația în vigoare.

Studiile întreprinse în cadrul tezei de doctorat sunt de un real interes practic pentru producătorii de miere de albine și pentru organele de control, deoarece la ora actuală problemele legate de poluarea mierii de albine cu antibiotice sunt din ce în ce mai frecvente, iar instituțiile de control în domeniul alimentației publice nu beneficiază și nu folosesc modele matematice în activitatea lor de monitorizare a concentrațiilor de antibiotice din miere, în vederea verificării siguranței produsului și respectiv a conformității alimentului cu criteriile de siguranță prevăzute de legislația în vigoare.

Cercetările efectuate în cadrul acestei lucrări, rezultatele experimentale obținute și prelucrarea acestora au urmărit aspectele următoare:

1. Aducerea unor contribuții personale la studiul posibilităților de îmbunătățire a indicatorilor de calitate a diferitelor sorturi de miere de albine din România.

2. Abordarea prin prisma teoriei sistemelor și a principiilor fundamentale utilizate în inginerie a problemelor legate de măsurarea indicatorilor de calitate ai sorturilor de miere de albine.
3. Utilizarea avantajelor incontestabile ale tehnicilor de modelare matematică în vederea studierii dependențelor existente între indicatorii de calitate ai sorturilor de miere de albine și o serie de parametri fizico-chimici și microbiologici.
4. Utilizarea metodelor de modelare matematică în vederea alegerii celor mai buni indicatori de calitate precum și formularea unor tehnici strategice de îmbunătățire a acestora.
5. Elaborarea unor modele matematice statistice de predicție cu ajutorul cărora să se poată prognoza modalitățile concrete de intervenție tehnice, tehnologice sau chimice, pentru îmbunătățirea valorilor indicatorilor de calitate ai sorturilor mierii de albine.
6. Pe baza studiilor efectuate în lucrare, elaborarea și trasarea unei hărți a României cu specific apicol.

Lucrarea evidențiază o evaluare a principalelor aspecte de tip chimic și biochimic care au stat la baza cercetărilor experimentale și a contribuțiilor aduse în domeniu.

De asemenea, s-a propus și o abordare sistemică a problemelor legate de calitatea mierii de albine prin elaborarea și utilizarea modelelor matematice.

Teza încearcă să satisfacă cerințele actuale cu privire la problematica abordată îmbinând armonios aspecte interdisciplinare complexe. Astfel, lucrarea răspunde exigențelor științifice și aplicative, atât din punct de vedere chimic, cât și din punctul de vedere al aspectelor legate de ingineria chimică.

Lucrarea se extinde pe 208 pagini, fiind structurată pe două părți, subdivizate în conformitate cu sistemul de ordonare și ierarhizare adoptat pentru tratarea problemelor propuse spre rezolvare. La finalul lucrării sunt prezentate concluziile generale, contribuțiile personale și bibliografia.

Lucrarea debutează cu o scurtă introducere, făcându-se referire la importanța calității mierii de albine pentru protecția sănătății consumatorilor, la problemele deosebite referitoare la indicatorii de calitate, precum și la motivele care au dus la alegerea acestei teme de cercetare pentru lucrarea de doctorat.

După introducerea amintită, sunt prezentate obiectivele generale ale lucrării.

Lucrarea este alcătuită din două părți distincte după cum urmează:

Prima parte, **“STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII ÎN DOMENIU”** care este structurată astfel:

Subcapitolele 1.1. – “Istoricul mierii”, 1.2. “Istoria apiculturii în România”, 1.3. “Albinele” și 1.4. “Mierea – produs final” care prezintă următoarele: un scurt istoric a apiculturii în România, caracteristici ale mierii de albine, tehnologii de recoltare și extracție, tipuri de miere, produsele mierii și beneficiile acesteia.

În subcapitolul 1.5. “ Sinteza principalelor legi, hotărâri și reglementări naționale și internaționale privind domeniul apiculturii” este prezentată o sinteză a principalelor legi, hotărâri, standarde și regulamente naționale și internaționale privind domeniul apicol.

În subcapitolul 1.6. “Indicatori de calitate a mierii” sunt prezentate metodele de examinare și analiză a mierii, indicatorii de calitate, defectele și falsificarea mierii precum și metode uzuale de depistare a mierii falsificate.

Prima parte se încheie cu subcapitolul 1.7. - “Generalități asupra tehnicilor de modelare și simulare numerică” în care sunt prezentate noțiunile legate de tendințele actuale de abordare a teoriei modelării, conceptul de sistem și identificarea acestuia, conceptele de model și modelare, insistându-se pe noțiunea de model statistic.

Partea a II-a, “**STUDII EXPERIMENTALE**” este componenta de bază a lucrării fiind dedicată analizei și sintezei rezultatelor cercetărilor în vederea atingerii obiectivelor propuse.

În subcapitolul 2.1 “Obiectivele părții experimentale” sunt prezentate obiectivele ce se doresc a fi atinse în cadrul cercetărilor efectuate.

În subcapitolul 2.2. “Direcțiile de cercetare abordate” sunt prezentate cele 6 studii independente (A-F), efectuate.

Subcapitolul 2.3. „Studii efectuate în cadrul direcțiilor de cercetare propuse”, constituie partea importantă a lucrării, în care se prezintă rezultatele analizelor realizate pe probe de miere recoltate din România, din diferite zone geografice. Astfel, sunt redate rezultatele experimentale obținute prin determinarea concentrației de tetraciclină și streptomycină din trei sorturi de miere în vederea monitorizării conținutului de reziduuri de antibiotice (**direcțiile de cercetare A-B**). Prelevarea probelor în vederea analizării lor s-a făcut de la stupine din diverse zone geografice, iar cercetările se bazează pe determinarea reziduurilor de tetraciclină și streptomycină pe o perioadă de 6 ani, respectiv 2003-2008. S-au făcut determinări de antibiotice pentru următoarele județe: Timiș, Bihor, Hunedoara, Satu-Mare, Cluj-Napoca, Alba-Iulia, Sibiu, Arad, Sălaj, Caraș-Severin, Argeș, Vâlcea, Mehedinți, Olt, Giurgiu, Dolj, Prahova, Gorj.

De asemenea, din județul Timiș, pe o perioadă de 6 ani, au fost recoltate în vederea analizării un număr de 233 de probe pentru determinarea tetracilinei și un număr de 186 de probe pentru detecția conținutului de streptomycină.

Cercetările efectuate în perioada 2003-2008 privind evaluarea nivelului contaminării cu tetraciclină și streptomycină a mierii de albine în zona de vest a României au evidențiat:

- ✓ dinamica probelor contaminate cu tetraciclină
- ✓ dinamica probelor contaminate streptomycină
- ✓ distribuția numărului de probe de miere analizate pentru determinarea tetracilinei
- ✓ distribuția numărului de probe de miere analizate pentru determinarea streptomicinei
- ✓ dinamica descendentă a procentului de probe contaminate cu tetraciclină
- ✓ distribuția probelor prezumtiv pozitive pentru tetraciclină în funcție de tipul de miere
- ✓ distribuția probelor prezumtiv pozitive pentru streptomycină în funcție de tipul de miere
- ✓ distribuția probelor pozitive (%) în funcție de tipul de antibiotic

Se observă că, frecvența probelor poluate cu tetraciclină, respectiv streptomycină diferă de la un an la altul. Astfel în anul 2003 s-a înregistrat cel mai mare număr de probe poluate cu tetraciclină (51,66%), pe când cele mai multe probe pozitive pentru streptomycină au fost în anul 2004 în procent de 14,17%.

În urma analizării probelor de miere de tei, de salcâm și polifloră recoltate din județul Timiș, în studiul monitorizării conținutului de reziduuri de antibiotice s-a evidențiat distribuția probelor detectate ca fiind pozitive pentru tetraciclină și streptomycină în funcție de timp și frecvența contaminării cu tetraciclină și streptomycină a celor trei tipuri de miere între anii 2003-2008.

În continuare, sunt prezentate studiile legate de stabilitatea limitei concentrației reziduurilor de tetraciclină în mierea de albine în funcție de timp și în funcție de sortul de miere **(direcția de cercetare C)** și a stabilității limitei concentrației reziduurilor de streptomycină în mierea de albine în funcție de timp și de temperatură **(direcția de cercetare D)**.

Scopul acestor studii a fost de a determina gradul de contaminare al probelor de miere cu tetraciclină, respectiv streptomycină și de a caracteriza, din punct de vedere cinetic, degradarea acestor antibiotice în diferite tipuri de miere în timpul depozitării.

Rezultatele prezentate au arătat că, concentrația de tetraciclină a scăzut în timp, în toate probele de miere, degradarea tetraciclinei având loc mult mai rapid în mierea polifloră. Timpul de înjumătățire al tetraciclinei crește cu creșterea pH-ului, corelația liniară foarte bună între cei doi parametri fiind confirmată de R^2 , coeficient de corelație. În toate cele trei tipuri de miere, pentru descrierea degradării reziduurilor de tetraciclină a fost adoptat un model cinetic de ordinul întâi.

În cazul streptomicinei, se observă o scădere continuă, dar nesemnificativă a concentrației de antibiotic, pentru proba de miere studiată. Valoarea timpului de înjumătățire al streptomicinei arată că acest antibiotic este stabil în miere la temperatura camerei în absența luminii, astfel că la 4^o, 22^o și 28^oC apar diferențe foarte mici ale concentrației de antibiotic, cantitatea de streptomycină din mierea de albine fiind stabilă, iar la 70 ^oC, respectiv 100 ^oC, streptomicina este nedetectabilă în miere. Nivelul de streptomycină a scăzut cu 2,48 % după trei zile de stocare, ajungând la o scădere a nivelului de streptomycină cu 11,38 % în ultima zi de analiză. Valoarea timpului de înjumătățire a streptomicinei în mierea de tei este egală cu 301 zile.

În cadrul **direcției de cercetare E**, se prezintă un studiu comparativ al metodelor rapide de detectare a reziduurilor de streptomycină din mierea de albine, cu cele de confirmare. Analizând rezultatele obținute, se observă că există diferențe mici în ceea ce privește detectarea reziduurilor de streptomycină în mierea de albine prin cele două metode (ELISA versus HPLC). Astfel, în fazele preliminare de identificare a streptomicinei pot fi utilizate metodele screening, acestea fiind mai rapide, mai ieftine și suficient de precise. Probele neconforme analizate prin testele screening implică confirmare prin HPLC.

Prin compararea dispersiilor celor două serii de analize (obținute prin ELISA, respectiv HPLC), testul F al lui Fischer-Snedecor, admite că ambele sunt la fel de reproductibile, indiferent de metoda de analiză.

Ultima **direcție de cercetare (F)**, prezintă cercetările efectuate în vederea elaborării, pe baza datelor experimentale, a unor modele matematice care să caracterizeze stabilitatea concentrației reziduurilor de tetraciclină și streptomycină în miere în condiții diferite de temperatură, în funcție de timp.

Pentru descrierea cât mai exactă a dependenței concentrației de tetraciclină, de temperatură și timp, s-a propus o relație polinomială, ecuația corelației multiple liniară de ordinul unu fiind de forma: $y=a_0+a_1\cdot x_1+a_2\cdot x_2$. Analiza corelativă arată că între conținutul de tetraciclină, temperatură, respectiv timpul de păstrare a mierii de albine există corelări apreciable (tabelul 43). Erorile relative au valori cuprinse între – 4,75% și +3,35%.

Prin prelucrarea datelor experimentale, s-au obținut o serie de modele statistice care indică influența cumulată a temperaturii și timpului de păstrare asupra conținutului în streptomycină. În cazul streptomicinei, erorile relative au valori cuprinse între – 0,01% și +0,42%.

Pentru a descrie cât mai exact dependența concentrației de streptomycină, de temperatură și timp, s-a propus o relație polinomială, ecuația corelației multiple liniară fiind de ordinul doi.

Analizând tabelul 47 cu indicatorii de adecvanță ai modelelor statistice determinate se observă că, valorile coeficientului de corelație R sunt foarte bune.

În vederea validării modelelor matematice s-a efectuat operația de testare, această operație realizându-se prin compararea valorilor calculate cu ajutorul modelului propriu-zis cu valorile reale măsurate. În urma acestei operații se poate concluziona faptul că modelele matematice elaborate reflectă cu acuratețe satisfăcătoare fenomenul studiat (tabelele 44 și 48).

Finalul tezei cuprinde **Concluziile generale și Contribuții personale**, în care sunt sintetizate concluziile generale asupra lucrării și se delimitează spațiul contribuțiilor personale de informațiile preluate din literatura de specialitate.

Contribuțiile personale sunt următoarele:

- Evaluarea preciziei metodelor de analiză prin validarea diferiților parametrii (repetabilitate, reproductibilitate, etc).
- Verificarea exactității rezultatelor prin utilizarea diagramelor de control.
- Studiul stabilității tetracilinei în mierea de albine în funcție de timp și în funcție de tipul de miere.
- Studiul stabilității streptomicinei în mierea de albine în funcție de timp, de temperatură și de tipul de miere.
- Elaborarea unor modele cinetice de ordinul întâi, ce caracterizează din punct de vedere teoretic procesele fizico-chimice care au loc în cadrul fenomenelor de degradare a tetracilinei și streptomicinei în diferite sorturi de miere.
- Elaborarea și validarea unor modele matematice care descriu dependențele existente între diferiți parametri ce influențează indicatorii de calitate ai mierii de albine.

- Elaborarea unor modele matematice statistice de predicție cu ajutorul cărora să se poată prognoza modalitățile concrete de intervenție tehnice, tehnologice sau chimice, pentru îmbunătățirea valorilor indicatorilor de calitate ai sorturilor mierii de albine
- Generarea și trasarea a două hărți a României cu specific apicol pe baza studiilor efectuate în lucrare

Cercetările și studiile efectuate se referă la metodele și mijloacele de testare a calității mierii de albine, care joacă un rol important atât în ceea ce privește valorificarea acesteia ca și produs propriu-zis, dar și ca materie primă în industria alimentară și farmaceutică. Îmbunătățirea calității mierii, presupune cunoașterea factorilor care o pot polua și metodele de testare pentru identificarea lor în vederea eliminării.

Având în vedere importanța limitării concentrațiilor de antibiotice în miere, în cadrul acestei lucrări s-au efectuat o serie de studii teoretice și experimentale referitoare atât la concentrațiile de antibiotic existente în produsele obținute în diferite zone ale României, cât și la posibilitățile și metodologiile tehnice de reducerea acestora.

De asemenea, s-au elaborat o serie de studii teoretice pe baza unor metode matematice care reflectă destul de concludent dependențele existente între indicatorii de calitate ai mierii și o serie de parametri fizico-chimici importanți. Pe baza aspectului acestor modele matematice se poate stabili o predicție asupra modalităților de modificare a parametrilor fizico-chimici externi, astfel încât indicatorii de calitate ai mierii să fie îmbunătățiți semnificativ.

În concordanță cu scopul acestei lucrări s-a propus realizarea unor obiective concrete în partea experimentală. În vederea atingerii acestor obiective s-au abordat șase direcții de cercetare concrete. În cadrul celor șase direcții de cercetare s-au efectuat studii, determinări experimentale, prelucrarea datelor experimentale, determinarea unor modele matematice, astfel încât toate obiectivele propuse au fost îndeplinite.