

ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾

z dnia 2008 r.

w sprawie metod analiz związanych z dokonywaniem oceny miodu

Na podstawie art. 34 pkt 2 ustawy z dnia 21 grudnia 2000 r. o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych (Dz. U. z 2005 r. Nr 187, poz. 1577, z późn. zm.²⁾) zarządza się, co następuje:

§ 1. Rozporządzenie określa metody:

1) analiz – w zakresie oznaczania:

a) zawartości w miodzie:

- wody,
- substancji nierozpuszczalnych w wodzie,
- fruktozy, glukozy i sacharozy,
- 5-hydroksymetylofurfuralu,
- proliny,

b) udziału pyłku przewodniego w miodzie,

c) przewodności elektrycznej właściwej miodu,

d) pH i wolnych kwasów w miodzie,

e) liczby diastazowej w miodzie;

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej - rynki rolne, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 3 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 16 listopada 2007 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 216, poz. 1599).

²⁾ Zmiany tekstu jednolitego wymienionej ustawy zostały ogłoszone w Dz. U. z 2006 r. Nr 170, poz. 1217, Nr 171, poz. 1225 i Nr 208, poz. 1541 oraz z 2007 r. Nr 176, poz. 1238.

2) sprawdzania spełnienia wymagań organoleptycznych miodu, określonych w § 4 rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 3 października 2003 r. w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej miodu (Dz. U. Nr 181, poz. 1773 oraz z 2004 r. Nr 40, poz. 370);

3) wykrywania obecności dekstryn skrobiowych, melasu, skrobi, sztucznych barwników i rozkruszka w miodzie;

4) wykrywania miodu sfermentowanego lub z zatrzymaną fermentacją.

§ 2. Metody, o których mowa w § 1, określone są w załączniku do rozporządzenia.

§ 3. Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

**MINISTER ROLNICTWA
I ROZWOJU WSI**

METODY ANALIZ ZWIĄZANE Z DOKONYWANIEM OCENY MIODU

I. METODA ANALIZY - W ZAKRESIE OZNACZANIA ZAWARTOŚCI WODY MIODZIE

1. Definicja

Metoda określa zawartość wody w miodzie wyrażoną w procentach wagowych, odpowiadającą oznaczonemu współczynnikowi refrakcji lub ekstraktu.

2. Zasada metody

Zawartość wody określa się refraktometrycznie, w miodzie znajdującym się w stanie płynnym.

3. Aparatura i sprzęt

W metodzie używa się podstawowego sprzętu laboratoryjnego oraz:

- 1) refraktometru;
- 2) łaźni wodnej.

4. Wykonanie oznaczenia:

- 1) w probówce umieszcza się około 5 g dobrze wymieszanego miodu, odważonego z dokładnością do 0,001 g; następnie probówkę zamyka się korkiem, a umieszczony w niej miód doprowadza się do stanu płynnego przez podgrzewanie w łaźni wodnej w temperaturze $35\pm 45^{\circ}\text{C}$;
- 2) za pomocą pręcika szklanego, na suchym dolnym przymacie refraktometru, umieszcza się kilka kropli miodu, po czym rozprowadza się po całej powierzchni pryzmatu i przykrywa suchym pryzmatem matowym;
- 3) wykonuje się pomiar i odczytuje na podziałce współczynnik załamania światła (refrakcji) z dokładnością do czwartego miejsca po przecinku; w przypadku wykonania pomiaru w temperaturze innej niż 20°C , na każdy stopień podwyższenia

temperatury należy zwiększyć zmierzony współczynnik refrakcji o 0,00023, a na każdy stopień poniżej 20°C obniżyć współczynnik o tę samą wielkość.

5. Prezentacja wyników

Z tablicy odczytuje się zawartość wody w procentach wagowych, odpowiadającą oznaczonemu współczynnikowi refrakcji lub ekstraktu. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej dwóch równoległych oznaczeń nie różniących się więcej niż o 0,2%.

Tablica

n_D^{20}	H ₂ O	Ekstrakt	n_D^{20}	H ₂ O	Ekstrakt	n_D^{20}	H ₂ O	Ekstrakt	n_D^{20}	H ₂ O	Ekstrakt
1,5018	14,0	84,4	1,4932	17,3	81,2	1,4850	20,6	78,0	1,4767	23,9	74,7
1,5015	14,1	84,3	1,4930	17,4	81,1	1,4847	20,7	77,9	1,4765	24,0	74,6
1,5012	14,2	84,2	1,4927	17,5	81,0	1,4845	20,8	77,8	1,4762	24,1	74,5
1,5009	14,3	84,1	1,4925	17,6	80,9	1,4842	20,9	77,7	1,4760	24,2	74,4
1,5007	14,4	84,0	1,4922	17,7	80,8	1,4840	21,0	77,6	1,4757	24,3	74,3
1,5004	14,5	83,9	1,4920	17,8	80,7	1,4837	21,1	77,5	1,4755	24,4	74,2
1,5002	14,6	83,8	1,4917	17,9	80,6	1,4835	21,2	77,4	1,4752	24,5	74,1
1,4999	14,7	83,7	1,4915	18,0	80,5	1,4832	21,3	77,4	1,4750	24,6	74,0
1,4997	14,8	83,6	1,4912	18,1	80,4	1,4830	21,4	77,2	1,4747	24,7	73,9
1,4994	14,9	83,5	1,4910	18,2	80,3	1,4827	21,5	77,1	1,4745	24,8	73,8
1,4992	15,0	83,4	1,4907	18,3	80,2	1,4825	21,6	77,0	1,4742	24,9	73,7
1,4989	15,1	83,4	1,4905	18,4	80,1	1,4822	21,7	76,9	1,4740	25,0	73,6
1,4987	15,2	83,3	1,4902	18,5	80,0	1,4820	21,8	76,8	1,4737	25,1	73,5
1,4984	15,3	83,2	1,4900	18,6	79,9	1,4817	21,9	76,7	1,4735	25,2	73,4
1,4982	15,4	83,0	1,4897	18,7	79,8	1,4815	22,0	76,6	1,4732	25,3	73,3
1,4979	15,5	83,0	1,4895	18,8	79,7	1,4812	22,1	76,5	1,4730	25,4	73,2

1,4976	15,6	82,8	1,4892	18,9	79,6	1,4810	22,2	76,4	1,4727	25,5	73,1
1,4973	15,7	82,7	1,4890	19,0	79,6	1,4807	22,3	76,3	1,4725	25,6	73,0
1,4971	15,8	82,6	1,4887	19,1	79,5	1,4805	22,4	76,2	1,4722	25,7	72,9
1,4968	15,9	82,5	1,4885	19,2	79,4	1,4802	22,5	76,1	1,4720	25,8	72,8
1,4966	16,0	82,4	1,4882	19,3	79,3	1,4800	22,6	76,0	1,4717	25,9	72,7
1,4963	16,1	82,3	1,4880	19,4	79,2	1,4797	22,7	75,9	1,4715	26,0	72,6
1,4961	16,2	82,2	1,4877	19,5	79,1	1,4795	22,8	75,8	1,4712	26,1	72,5
1,4958	16,3	82,1	1,4875	19,6	79,0	1,4792	22,9	75,7	1,4710	26,2	72,4
1,4955	16,4	82,1	1,4872	19,7	78,9	1,4790	23,0	75,6	1,4707	26,3	72,3
1,4953	16,5	82,0	1,4870	19,8	78,8	1,4787	23,1	75,5	1,4705	26,4	72,2
1,4951	16,6	81,9	1,4867	19,9	78,7	1,4785	23,2	75,4	1,4702	26,5	72,1
1,4948	16,7	81,8	1,4865	20,0	78,6	1,4782	23,3	75,3	1,4700	26,6	72,0
1,4946	16,8	81,7	1,4862	20,1	78,5	1,4780	23,4	75,2	1,4697	26,7	71,9
1,4943	16,9	81,6	1,4860	20,2	78,4	1,4777	23,5	75,1	1,4695	26,8	71,8
1,4940	17,0	81,5	1,4857	20,3	78,3	1,4775	23,6	75,0	1,4692	26,9	71,7
1,4937	17,1	81,4	1,4855	20,4	78,2	1,4772	23,7	74,9	1,4690	27,0	71,6
1,4935	17,2	81,3	1,4852	20,5	78,1	1,4770	23,8	74,8			

6. Z analizy laboratoryjnej sporządza się protokół, który zawiera:

1) nazwę zastosowanej metody;

2) uzyskane wyniki;

3) wszystkie czynności niewymienione w metodzie lub uznane za nieobowiązkowe, łącznie ze szczegółami każdej okoliczności, która mogła wpłynąć na wynik oznaczenia;

4) informacje niezbędne do pełnego zidentyfikowania próbki.

II. METODA ANALIZY - W ZAKRESIE OZNACZANIA ZAWARTOŚCI SUBSTANCJI NIEROZPUSZCZALNYCH W WODZIE ZAWARTYCH W MIODZIE

1. Definicja

Metoda określa zawartość substancji nierozpuszczalnych w wodzie zawartych w miodzie wyrażoną w procentach wagowych.

2. Zasada metody

Zawartość substancji nierozpuszczalnych w wodzie zawartych w miodzie określa się na podstawie osadu uzyskanego podczas przesączenia rozpuszczonego miodu przez sączek.

3. Aparatura i sprzęt

W metodzie używa się podstawowego sprzętu laboratoryjnego oraz:

- 1) wagi analitycznej, umożliwiającej zważenie z dokładnością do 0,001 g i odczyt do 0,0001 g;
- 2) zlewki o pojemności 150 ml;
- 3) sączka ilościowego z miękkiej bibuły;
- 4) suszarki;
- 5) ekcykatora;
- 6) naczyńka wagowe.

4. Wykonanie oznaczenia:

1) w zlewce o pojemności 150 ml umieszcza się około 25 g miodu, odważonego z dokładnością do 0,01 g i rozcieńcza w około 100 ml wody o temperaturze około 70°C;

2) sączek ilościowy z miękkiej bibuły do sączenia wysusza się w naczyniu wagowym przez 1 h w suszarce o temperaturze 100±150°C i waży się z dokładnością do 0,0001 g; następnie roztwór miodu przesącza się przez przygotowany sączek, osad na sączku przemywa się wodą o temperaturze 70°C do momentu całkowitego wypłukania miodu z sączka, po czym sączek z osadem umieszcza się w zważonym naczynku wagowym i suszy przez 1 h w suszarce o temperaturze 100±105°C; po ostudzeniu w ekcykatorze należy zważyć z dokładnością do 0,0001 g.

5. Prezentacja wyników

Zawartość substancji nierozpuszczalnych w wodzie zawartych w miodzie przedstawia się w procentach wagowych. Jako wynik podaje się średnią z dwóch powtórzeń. Wynik podaje się z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

6. Z analizy laboratoryjnej sporządza się protokół, który zawiera:

- 1) nazwę zastosowanej metody;
- 2) uzyskane wyniki;
- 3) wszystkie czynności niewymienione w metodzie lub uznane za nieobowiązkowe, łącznie ze szczegółami każdej okoliczności, która mogła wpłynąć na wynik oznaczenia;
- 4) informacje niezbędne do pełnego zidentyfikowania próbki.

III. METODA ANALIZY - W ZAKRESIE OZNACZANIA ZAWARTOŚCI FRUKTOZY, GLUKOZY I SACHAROZY W MIODZIE

1. Definicja

Zawartość cukrów: fruktozy, glukozy i sacharozy w miodzie stanowi ich procentowy udział, obliczany według wzoru określonego w ust. 6.

2. Zasada metody

Po przefiltrowaniu wodnego roztworu miodu, zawartość cukrów oznacza się metodą chromatografii cieczowej. Piki identyfikuje się na podstawie ich czasów retencji. Oznaczenie ilościowe przeprowadza się wykorzystując standard zewnętrzny i opierając się na powierzchni lub wysokości piku.

3. Aparatura i sprzęt

Dopuszcza się stosowanie innej kolumny chromatograficznej oraz odpowiednio innych ustawień chromatografu niż opisane w metodzie z zastrzeżeniem, że w przypadku sporów, za właściwy uznaje się wynik uzyskany przy zastosowaniu kolumny i ustawień chromatografu, zgodnie z niniejszą metodą.

W metodzie używa się podstawowego sprzętu laboratoryjnego oraz:

- 1) chromatografu cieczowego z detektorem refraktometrycznym (RI), pompą, autosamplerem, piecem do kolumn umożliwiającym utrzymanie temperatury na poziomie 30°C, oraz integratorem lub komputerem zbierającym dane pomiarowe;
- 2) kolumny chromatograficznej ze stali nierdzewnej, o średnicy 4,6 mm, o długości 250 mm, wypełnionej żelazem krzemionkowym modyfikowanym grupami aminowymi, o rozmiarze cząstek 5÷7 µm;
- 3) wagi analitycznej, umożliwiającej zważenie z dokładnością do 0.001 g i odczyt do 0,0001 g;
- 4) łaźni ultradźwiękowej;
- 5) strzykawki z filtrem strzykawkowym o porach 0,45 µm;
- 6) fiolek do próbek;
- 7) kolby miarowej o pojemności 100 ml;
- 8) pipety o pojemności 25 ml;
- 9) zlewki.

4. Jeżeli w metodzie nie określono inaczej to stosuje się odczynniki o stopniu czystości: czysty do analiz (cz.d.a.). W metodzie wykorzystuje się:

- 1) metanol do HPLC;
- 2) acetonitryl do HPLC;
- 3) wodę destylowaną lub demineralizowaną albo o co najmniej równorzędnej czystości;
- 4) wzorce chromatograficzne glukozy, fruktozy i sacharozy.

5. Wykonanie oznaczenia:

1) odważa się z dokładnością do 0,001 g około: 2 g glukozy, 1,5 g fruktozy i 0,25 g sacharozy, naważki wzorców rozpuszcza się w zlewce w około 40 ml wody; następnie pipetą przenosi się 25 ml metanolu do kolby pomiarowej o pojemności 100 ml; po czym przenosi się ilościowo roztwór wzorców do kolby z metanolem i uzupełnia się do kreski wodą; mieszanina wzorców ma trwałość 4 tygodnie - jeżeli jest przechowywana w temperaturze +4°C lub 6 miesięcy - jeżeli jest przechowywana w temperaturze -18°C;

2) należy odważyć około 5 g miodu z dokładnością do 0,001 g; po czym w zlewce rozpuszcza się miód w około 40 ml wody; pipetą przenosi się 25 ml metanolu do kolby pomiarowej o pojemności 100 ml; następnie przenosi się ilościowo roztwór miodu do kolby z metanolem i uzupełnia się do kreski wodą; przechowuje się tak jak roztwór wzorcowy;

3) za pomocą strzykawki z filtrem strzykawkowym napełnia się fiolki autosamplera oddzielnie roztworem próbki i roztworem wzorcowym;

4) przygotowuje się fazę ruchomą; należy wymieszać acetonitryl z wodą w stosunku 80:20 (v/v) i odgazować;

5) podczas analizy chromatograficznej stosuje się poniższe ustawienia chromatografu:

a) przepływ: 1,3 ml/min,

b) temperatura kolumny i detektora: 30°C,

c) objętość próbki podawana na kolumnę: 10 µl;

6) jeżeli nie jest możliwe przeprowadzenie analizy w 30°C i jeżeli detektor nie może być termostatowany w 30°C, analizę przeprowadza się w temperaturze pokojowej;

7) roztwór próbki oraz roztwór wzorcowy poddaje się chromatografii.

6. Obliczenia oraz prezentacja wyników:

1) cukry w miodzie identyfikuje się, a ich ilość określa poprzez porównanie czasów retencji i powierzchni pików cukrów w miodzie z tymi, które są obecne w roztworze wzorcowym;

2) procentowy udział cukru „W” oblicza się według wzoru:

$$W = \frac{A_1 \times V_1 \times m_1}{A_2 \times V_2 \times m_0} \times 100 ,$$

w którym:

A_1 – oznacza powierzchnię piku lub wysokość piku określonego cukru w roztworze próbki, w jednostkach powierzchni lub długości,

A_2 - oznacza odpowiednio powierzchnię piku lub wysokość piku określonego cukru w roztworze wzorcowym, w jednostkach powierzchni lub długości,

V_1 - oznacza całkowitą objętość roztworu próbki, w mililitrach,

V_2 - oznacza całkowitą objętość roztworu wzorcowego, w mililitrach,

m_1 - oznacza naważkę wzorca danego cukru, w gramach,

m_0 - oznacza naważkę miodu, w gramach;

3) wynik końcowy podaje się z dokładnością do jednego miejsca po przecinku; zawartość fruktozy i glukozy podaje się jako sumę tych dwóch cukrów; zawartość sacharozy podaje się jako wynik odrębny.

7. Powtarzalność

1) różnica między wynikami dwóch oznaczeń zawartości glukozy przeprowadzonych jednocześnie lub w krótkim odstępie czasu na tej samej próbce, przez tego samego analityka, w tych samych warunkach, nie powinna przekraczać 1,1 g na 100 g próbki;

2) różnica między wynikami dwóch oznaczeń zawartości fruktozy przeprowadzonych jednocześnie lub w krótkim odstępie czasu na tej samej próbce, przez tego samego analityka, w tych samych warunkach, nie powinna przekraczać 1,0 g na 100 g próbki;

3) różnica między wynikami dwóch oznaczeń zawartości sacharozy przeprowadzonych jednocześnie lub w krótkim odstępie czasu na tej samej próbce, przez tego samego analityka, w tych samych warunkach, nie powinna przekraczać 0,4 g na 100 g próbki.

8. Z analizy laboratoryjnej sporządza się protokół, który zawiera:

1) nazwę zastosowanej metody;

2) uzyskane wyniki;

3) wszystkie czynności niewymienione w metodzie lub uznane za nieobowiązkowe, łącznie ze szczegółami każdej okoliczności, która mogła wpłynąć na wynik oznaczenia;

4) informacje niezbędne do pełnego zidentyfikowania próbki.

IV. METODA ANALIZY - W ZAKRESIE OZNACZANIA ZAWARTOŚCI 5-HYDROKSYMETYLOFURFURALU W MIODZIE

1. Definicja

Metoda określa stężenie 5-(hydroksymetylo-)furano-2-karboaldehydu. Wynik wyraża się w miligramach na kilogram.

2. Zasada metody

Zawartość hydroksymetylofurfuralu (HMF) określa się w klarownym, przefiltrowanym, wodnym roztworze miodu przy użyciu metody HPLC z odwróconymi fazami i detekcją UV. Otrzymany sygnał porównuje się z wzorcami o znanym stężeniu.

3. Aparatura i sprzęt

Dopuszcza się stosowanie innej kolumny chromatograficznej oraz odpowiednio innych ustawień chromatografu niż opisane w metodzie z zastrzeżeniem, że w przypadku sporów, za właściwy uznaje się wynik uzyskany przy zastosowaniu kolumny i ustawień chromatografu, zgodnie z niniejszą metodą.

W metodzie używa się podstawowego sprzętu laboratoryjnego oraz:

- 1) chromatografu cieczowego HPLC z detektorem UV oraz integratorem lub komputerem z odpowiednim oprogramowaniem;
- 2) kolumny z wypełnieniem dla fazy odwróconej C₁₈;
- 3) filtru membranowego o porach 0,45 µm;
- 4) wagi analitycznej, umożliwiającej zważenie z dokładnością do 1 mg i odczyt do 0,1 mg;
- 5) kolby miarowej o pojemności: 50, 100 ml;
- 6) zlewki o pojemności 50 ml;
- 7) pipety o pojemności 0,5 ml.

4. Jeżeli w metodzie nie określono inaczej to stosuje się odczynniki o stopniu czystości: czysty do analiz (cz.d.a.). W metodzie wykorzystuje się:

- 1) wodę-metanol (90+10 objętościowo), oba odczynniki o jakości do HPLC - faza ruchoma;
- 2) roztwory wzorcowe: roztwór wodny 5-(hydroksymetylo-)furano-2-karboaldehydu, 1, 2, 5 i 10 mg/l, roztwór powinien zostać przygotowany w dniu użycia;
- 3) żelazocyjanek potasu K₄Fe(CN)₆ x 3H₂O;
- 4) octan cynku Zn(CH₃COO)₂ x 2H₂O;

5) roztwór Carreza I: 15 g żelazocyjanku potasowego 3-wodnego rozpuścić w wodzie w kolbie pomiarowej o pojemności 100 ml i uzupełnić wodą do kreski;

6) roztwór Carreza II: 30 g octanu cynku 2-wodnego rozpuścić w wodzie w kolbie pomiarowej o pojemności 100 ml i uzupełnić wodą do kreski.

5. Wykonanie oznaczenia:

1) oznaczanie zawartości HMF w roztworze wzorcowym: absorbanca A przygotowanego roztworu wzorcowego jest określana przy użyciu spektrofotometru UV przy długości fali 285 nm w 1 cm kwarcowych kuwetach wobec wody jako ślepej próbki; stężenie roztworu wzorcowego oblicza się według wzoru:

$$X = \frac{A}{1 \times 133,57} \times 1000 ,$$

w którym:

X - oznacza stężenie roztworu wzorcowego, w miligramach na litr,

A - oznacza absorbancję roztworu wzorcowego,

133,57 - oznacza wartość absorpcji $a_{cm}^{1\%}$;

2) wyliczona zawartość musi korespondować ze specyfikacjami podanymi przez dostawcę; roztwór wzorcowy przechowuje się w temperaturze 4-8°C w atmosferze azotu; roztwór jest skrajnie higroskopijny; jeśli stężenie HMF jest bardzo wysokie, potrzebna jest mniejsza naważka próbki miodu;

3) oznaczanie zawartości HMF w roztworze próbki miodu: odważa się około 10 g próbki miodu z dokładnością do 0,0001 g do 50 ml zlewki; następnie rozpuszcza się próbkę w około 25 ml wody i przenosi ilościowo do kolby miarowej o pojemności 50 ml; po czym dodaje się po 0,5 ml roztworów Carreza I i Carreza II, a następnie kolbę uzupełnia do kreski wodą; potem przesącza się przez sączonek karbowany i następnie przefiltrowuje przez filtr membranowy o porach 0,45 μm w celu otrzymania roztworu próbki gotowego do chromatografii; jeśli stężenie HMF jest bardzo wysokie, odważa się mniejszą naważkę próbki miodu; jeżeli próbka jest poddawana analizie w czasie do pół godziny od przygotowania roztworu, nie jest konieczne stosowanie roztworów Carreza;

4) podczas analizy chromatograficznej stosuje się poniższe ustawienia chromatografu:

a) szybkość przepływu: 1,0 ml/minutę,

b) objętość nastrzyku: 20 μ l roztworu próbki lub roztworu wzorcowego,

c) detekcja: UV długość fali 285 nm;

5) poddaje się chromatografii roztwór próbki oraz roztwór wzorcowy.

6. Obliczenia i sposób przedstawienia wyników

Zawartość HMF w roztworze próbki oblicza się poprzez porównanie odpowiednich powierzchni pików dla roztworu próbki oraz roztworu wzorcowego, po uwzględnieniu rozcieńczenia. Istnieje liniowa zależność pomiędzy stężeniem a powierzchnią pików dla HMF. Wyniki podaje się w mg/kg miodu z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

7. Powtarzalność

Różnica między wynikami dwóch oznaczeń przeprowadzonych jednocześnie lub w krótkim odstępie czasu na tej samej próbce, przez tego samego analityka, w tych samych warunkach, nie powinna przekraczać:

1) 10% średniego wyniku dla zawartości HMF poniżej 20 mg/kg;

2) 5% średniego wyniku dla zawartości HMF równej lub wyższej 20 mg/kg.

8. Z analizy laboratoryjnej sporządza się protokół, który zawiera:

1) nazwę zastosowanej metody;

2) uzyskane wyniki;

3) wszystkie czynności niewymienione w metodzie lub uznane za nieobowiązkowe, łącznie ze szczegółami każdej okoliczności, która mogła wpłynąć na wynik oznaczenia;

4) informacje niezbędne do pełnego zidentyfikowania próbki.

V. METODA ANALIZY – W ZAKRESIE OZNACZANIA ZAWARTOŚCI PROLINY W MIODZIE

1. Zasada oznaczania

Oznaczanie proliny polega na wyodrębnieniu jej z innych aminokwasów miodu za pomocą izopropanolu i pomiarów kolorymetrycznych jej barwnego kompleksu z ninhydriną. Wynik wyraża się w miligramach na 100 g miodu.

2. W metodzie używa się podstawowego sprzętu laboratoryjnego oraz spektrofotometru.

3. Jeżeli w metodzie nie określono inaczej to stosuje się odczynniki o stopniu czystości: czysty do analiz (cz.d.a.). W metodzie wykorzystuje się:

1) stężony kwas mrówkowy;

2) 3% (m/m) roztwór ninhydriny w dwumetoksyetanolu wolnym od nadtlenczków (eter jednometylowy glikolu etylenowego – $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$);

3) wodny roztwór izopropanolu 1:1 (V/V);

4) wzorzec proliny.

4. Wykonanie oznaczenia:

1) odważa się około 2,5 g miodu z dokładnością do czwartego miejsca po przecinku i przenosi ilościowo do kolby pomiarowej o pojemności 50 ml, dopełnia się wodą do kreski;

2) przy pomocy pipety przenosi się 0,5 ml roztworu miodu do 3 probówek (20 x 150 mm, z teflonowym korkiem i nakrętkami), dodaje 0,25 ml stężonego kwasu mrówkowego, 1 ml 3% (m/m) roztworu ninhydriny w dwumetoksyetanolu wolnym od nadtlenczków; po czym zamyka się, miesza i umieszcza na 15 min we wrzącej łaźni wodnej; następnie studzi się do 22°C w ciągu 5 min i dodaje 5 ml wodnego roztworu izopropanolu [1:1 (V/V)]; następnie należy wymieszać i zmierzyć ekstynkcję przy długości fali 520 nm, obok próbki zerowej zrobionej z 0,5 ml roztworu miodu, 1,25 ml wody i 5 ml wodnego roztworu izopropanolu [1:1 (V/V)];

3) sporządza się krzywą wzorcową w następujący sposób:

a) odważa się 40 mg (z dokładnością do 0,0001 g) proliny i rozpuszcza w 1000 ml wody; z tego pobiera się 10, 25, 50 ml i rozcieńcza wodą do 100 ml,

b) z otrzymanych roztworów oraz z roztworu wyjściowego pobiera się po 0,5 ml i oznacza ekstynkcję (jak w ust. 4. 2)) stosując zamiast roztworu miodu kolejne rozcieńczenie proliny,

c) krzywą wzorcową wykreśla się w układzie: absorpcja - µg proliny/0,5 ml.

4) z krzywej wzorcowej odczytuje się zawartość proliny.

5. Obliczenia oraz prezentacja wyników

Zawartość proliny w mg/100 g miodu (P) oblicza się według wzoru:

$$P = A \times 4000 ,$$

w którym:

A - oznacza ilość µg proliny w 0,5 ml badanego roztworu (odczyt z krzywej wzorcowej),

4000 - oznacza współczynnik rozcieńczeń.

Różnica między wynikami dwóch oznaczeń przeprowadzonych jednocześnie lub w krótkim odstępie czasu na tej samej próbce, przez tego samego analityka, w tych samych warunkach, nie powinna przekraczać 5% wyniku średniego. Wynik podaje się z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

6. Z analizy laboratoryjnej sporządza się protokół, który zawiera:

1) nazwę zastosowanej metody;

2) uzyskane wyniki;

3) wszystkie czynności niewymienione w metodzie lub uznane za nieobowiązkowe, łącznie ze szczegółami każdej okoliczności, która mogła wpłynąć na wynik oznaczenia;

4) informacje niezbędne do pełnego zidentyfikowania próbki.

VI. METODA ANALIZY - W ZAKRESIE OZNACZANIA UDZIAŁU PYŁKU PRZEWODNIEGO W MIODZIE

1. Definicja

Udział pyłku przewodniego w miodzie określa się na podstawie analizy pyłkowej miodu. Z próbki miodu wyodrębnia się pyłek rośliny, którego zawartość występuje w znacznej przewodzie. Wynik wyraża się w procentach.

2. Zasada metody

Oznaczanie polega na określeniu procentowego udziału pyłków poszczególnych gatunków roślin w miodzie. Na tej podstawie określa się odmianę miodu nektarowego nazwą tej rośliny, której procentowa zawartość pyłku w miodzie występuje w znacznej przewadze.

3. Aparatura i sprzęt

W metodzie używa się podstawowego sprzętu laboratoryjnego oraz:

- 1) wagi technicznej;
- 2) mikroskopu laboratoryjnego;
- 3) wirówki 3000 obr/min;
- 4) palnika spirytusowego;
- 5) termometru ze skalą stopniową do 100°C.

4. Wykonanie oznaczenia:

1) waży się około 10 g miodu w probówce wirówkowej o pojemności 20 ml, dopełnia się wodą o temperaturze około 50°C do 20 ml i miesza pręcikiem do całkowitego rozpuszczenia miodu; następnie wiruje się przez 5÷10 min przy prędkości 3000 obrotów/min; po czym pipetą odciąga się ostrożnie płyn znad osadu; napełnia się probówki wodą do 20 ml i powtórnie wiruje, a następnie dekantuje; gdy osadu jest około 0,1 ml pozostawia się nad nim warstwę wody grubości około 0,5 cm, gdy osadu jest około 0,3 ml pozostawia się 1 cm warstwę wody; osad należy wymieszać;

2) pobiera się mikropipetą 0,1 ml dokładnie wymieszanego osadu, przenosi na szkiełko podstawowe i rozprowadza równomiernie na powierzchni 1 cm² (wykreślonego uprzednio na odwrotnej względem rozmazu stronie szkiełka); z drugiej probówki w identyczny sposób przygotowuje się drugi rozmaz na tym samym szkiełku podstawowym; preparat należy nieco podsuszyć. Umieszcza się kroplę żelatyny na szkiełku przykrywkowym, szkiełka należy połączyć kładąc przykrywkowe od góry na szkiełko podstawowe; przed przystąpieniem do wykonania preparatu należy zwrócić uwagę na dokładne umycie szkiełek, pręcików i pipet;

3) preparat początkowo bada się ogólnie dla zorientowania się czy powstał równomierny rozkład ziaren pyłku na szkiełku; należy policzyć 300 kolejnych ziaren pyłku przesuwając preparat pasami równomiernie za pomocą śrub stolika; liczbę

ziaren pyłku poszczególnych roślin zestawia się w tabeli; gatunki nie określone zapisuje się jako inne; oddzielnie notuje się liczbę ziaren pyłku roślin wiatropylnych i nienektarujących.

5. Prezentacja wyników:

1) od policzonych 300 ziaren pyłku należy odliczyć wszystkie ziarna pyłku roślin wiatropylnych i nie wydzielających nektaru; udział pyłku przewodniego (X) oblicza się w procentach według wzoru:

$$X = \frac{p \times 100}{z} ,$$

w którym:

p – oznacza liczbę ziaren pyłku występującego w znacznej przewodzie,

z – oznacza liczbę ziaren pyłku roślin nektarujących;

2) w celu dokładniejszego określenia odmiany miodu przyjmuje się średnią z kilku oznaczeń (co najmniej dwóch);

3) w przypadku różnicy między wynikami z poszczególnych oznaczeń większej niż 5%, wykonuje się następne oznaczania; do obliczenia średniej przyjmuje się dwa lub trzy wyniki o najbliższej względem siebie wartości.

6. Z analizy laboratoryjnej sporządza się protokół, który zawiera:

1) nazwę zastosowanej metody;

2) uzyskane wyniki;

3) wszystkie czynności niewymienione w metodzie lub uznane za nieobowiązkowe, łącznie ze szczegółami każdej okoliczności, która mogła wpłynąć na wynik oznaczenia;

4) informacje niezbędne do pełnego zidentyfikowania próbki.

VII. METODA ANALIZY - W ZAKRESIE OZNACZANIA PRZEWODNOŚCI ELEKTRYCZNEJ WŁAŚCIWEJ MIODU

1. Definicja

Przewodnością elektryczną właściwą miodu jest przewodność 1 ml 20% (m/m) roztworu miodu w przeliczeniu na suchą masę, w temperaturze 20°C. Wynik wyraża się w milisimensach na centymetr (mS x cm⁻¹).

2. Zasada metody

Oznaczanie przewodności elektrycznej właściwej miodu polega na pomiarze oporu elektrycznego przy pomocy naczynka konduktometrycznego, roztworu zawierającego 20 g miodu w przeliczeniu na suchą masę, w 100 ml wody destylowanej.

3. Aparatura i sprzęt

W metodzie używa się podstawowego sprzętu laboratoryjnego oraz:

- 1) miernika przewodności;
- 2) wagi analitycznej;
- 3) łaźni wodnej;
- 4) naczynka konduktometrycznego;
- 5) termometru ze skalą stopniową do 100°C;
- 6) kolby miarowej o pojemności: 100 ml i 1000 ml;
- 7) zlewki.

4. Jeżeli w metodzie nie określono inaczej to stosuje się odczynniki o stopniu czystości: czysty do analiz (cz.d.a.). W metodzie wykorzystuje się:

- 1) wodę świeżo destylowaną;
- 2) roztwór chlorku potasu, 0,1 M, przygotowany na dzień przed zastosowaniem w następujący sposób: w 1000 ml kolbie rozpuszcza się w niewielkiej ilości wody (świeżo destylowanej) 7,4557 g chlorku potasu (KCl) wysuszonego w temperaturze 130°C i dopełnia do kreski;

5. Wykonanie oznaczenia:

- 1) odważa się z dokładnością do 0,001 g około 20 g miodu w przeliczeniu na suchą masę, wyliczoną według wzoru:

$$M = \frac{20g \times 100}{MS} ,$$

w którym:

M - oznacza potrzebną odważkę miodu, w gramach,

MS - oznacza zawartość suchej masy, która jest równa: 100% minus zawartość wody (oznaczonej według metody analizy – w zakresie oznaczania zawartości wody w miodzie);

2) odważoną ilość miodu rozpuszcza się w niewielkiej ilości wody destylowanej w 100 ml kolbie miarowej i dopełnia do kreski;

3) jeżeli naczynko konduktometryczne nie ma wyznaczonej stałej, określa się ją w następujący sposób:

a) umieszcza się 40 ml roztworu chlorku potasu w zlewce; następnie podłącza się naczynko konduktometryczne do miernika przewodności, przemywa je roztworem chlorku potasu i zanurza w roztworze wraz z termometrem; po czym odczytuje się przewodność elektryczną roztworu w mS w momencie gdy roztwór osiągnie temperaturę 20°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$); w celu uniknięcia zafałszowania odczytu w związku z efektem polaryzacji, czas pomiaru powinien być możliwie najkrótszy,

b) oblicza się stałą naczynka K według wzoru:

$$K = 11,691 \times 1/G ,$$

w którym:

K - oznacza stałą naczynka w cm^{-1} ,

G - oznacza przewodność elektryczna w mS, mierzona przy użyciu naczynka konduktometrycznego,

11,691- suma wartości średniej przewodności elektrycznej wody świeżo destylowanej w $\text{mS} \times \text{cm}^{-1}$ oraz przewodności elektrycznej 0,1 M roztworu chlorku potasu, w temperaturze 20°C,

c) po określeniu stałej naczynka, przepłukuje się elektrodę wodą destylowaną;

4) 40 ml roztworu próbki przelewa się do zlewki, zlewkę należy umieścić w łaźni wodnej o temperaturze 20°C; naczynko konduktometryczne należy opłukać pozostałą częścią roztworu próbki; zanurza się naczynko pomiarowe (czujnik) w roztworze próbki i odczytuje wynik pomiaru, gdy temperatura roztworu będzie

wynosiła 20°C (± 0,5°C); w celu uniknięcia zafałszowania odczytu w związku z efektem polaryzacji, czas pomiaru powinien być możliwie najkrótszy.

6. Obliczenia oraz prezentacja wyników:

1) przewodność elektryczną właściwą miodu wyraża się w milisimensach x cm⁻¹ (mS x cm⁻¹) wyliczając według wzoru:

$$S_H = K \times G ,$$

w którym:

S_H - oznacza przewodność elektryczną roztworu miodu wyrażoną w mS x cm⁻¹,

K - oznacza stałą naczynka wyrażoną w cm⁻¹,

G - oznacza przewodność wyrażoną w mS;

2) wynik (S_H) należy wyrazić z dokładnością do 0,001 mS x cm⁻¹.

7. Powtarzalność

Różnica między wynikami dwóch oznaczeń przeprowadzonych jednocześnie lub w krótkim odstępie czasu na tej samej próbce, przez tego samego analityka, w tych samych warunkach, nie powinna przekraczać 10% wyniku średniego.

8. Z analizy laboratoryjnej sporządza się protokół, który zawiera:

1) nazwę zastosowanej metody;

2) uzyskane wyniki;

3) wszystkie czynności niewymienione w metodzie lub uznane za nieobowiązkowe, łącznie ze szczegółami każdej okoliczności, która mogła wpłynąć na wynik oznaczenia;

4) informacje niezbędne do pełnego zidentyfikowania próbki.

VIII. METODA ANALIZY - W ZAKRESIE OZNACZANIA pH I WOLNYCH KWASÓW W MIODZIE

1. Definicja

Wolną kwasowość miodu stanowi zawartość wszystkich wolnych kwasów. Wynik wyraża się w milirównoważnikach na kilogram miodu (mval/kg), określonych za pomocą tej metody.

2. Zasada metody

W roztworze wodnym próbki miodu mierzone jest pH. Roztwór jest miareczkowany za pomocą roztworu wodorotlenku sodu o stężeniu 0,1 M do pH 8,30.

3. Aparatura i sprzęt

W metodzie używa się podstawowego sprzętu laboratoryjnego oraz:

- 1) pH-metru o dokładności 0,01 jednostki;
- 2) mieszadła magnetycznego;
- 3) wagi analitycznej, umożliwiającej zważenie z dokładnością do 1 mg i odczyt do 0,1 mg;
- 4) biurety o pojemności 10 ml o dokładności 0,02 ml lub automatycznego titratora;
- 5) zlewki o pojemności 250 ml.

4. Jeżeli w metodzie nie określono inaczej to stosuje się odczynniki o stopniu czystości: czysty do analiz (cz.d.a.). W metodzie wykorzystuje się:

- 1) wodę destylowaną wolną od dwutlenku węgla;
- 2) roztwory buforowe do kalibracji pH-metru o pH około 4,0; pH około 7,0 i pH około 9,0;
- 3) mianowany roztwór wodorotlenku sodu o stężeniu 0,1 M.

5. Wykonanie oznaczenia:

- 1) pH-metr kalibruje się przy pH około 4,0; pH około 7,0 i pH około 9,0 w sposób zgodny z dokumentacją techniczną;
- 2) w zlewce 250 ml rozpuszcza się 10 g miodu odważonego z dokładnością do 0,02 g w 75 ml wody destylowanej wolnej od dwutlenku węgla;
- 3) w roztworze próbki, mieszanym przy użyciu mieszadła magnetycznego, zanurza się elektrody pH; następnie odczytuje wynik i notuje pH z dokładnością do drugiego miejsca po przecinku; po czym miareczkuje się za pomocą 0,1M roztworu NaOH do pH = 8,3 (stabilny odczyt powinien zostać otrzymany w przeciągu około 120 sekund od rozpoczęcia miareczkowania);
- 4) zapisuje się pomiar z dokładnością do drugiego miejsca po przecinku.

6. Obliczenia oraz prezentacja wyników:

1) pH – według pomiaru pH-metru, wynik podaje się z dokładnością do drugiego miejsca po przecinku;

2) wolną kwasowość (N) wyraża się w mval/kg miodu,

$N = \text{ml } 0,1 \text{ M NaOH} \times 10;$

wynik podaje się z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

7. Powtarzalność

Różnica między wynikami dwóch oznaczeń przeprowadzonych jednocześnie lub w krótkim odstępie czasu na tej samej próbce, przez tego samego analityka, w tych samych warunkach, nie powinna przekraczać 10% wyniku średniego.

8. Z analizy laboratoryjnej sporządza się protokół, który zawiera:

1) nazwę zastosowanej metody;

2) uzyskane wyniki;

3) wszystkie czynności niewymienione w metodzie lub uznane za nieobowiązkowe, łącznie ze szczegółami każdej okoliczności, która mogła wpłynąć na wynik oznaczenia;

4) informacje niezbędne do pełnego zidentyfikowania próbki.

IX. METODA ANALIZY - W ZAKRESIE OZNACZANIA LICZBY DIASTAZOWEJ W MIODZIE

1. Definicja

Jednostkę aktywności diastazy określa się jako taką ilość enzymu, która przekształca 0,01 g skrobi do określonego punktu końcowego w czasie jednej godziny w temperaturze 40°C w warunkach testowych. Wyniki wyraża się w jednostkach Schade na gram miodu.

2. Zasada metody

Aktywność diastatyczną miodu określa się metodą fotometryczną, w której jako substrat stosowana jest nierozpuszczalna skrobia koniugowana z błękitnym barwnikiem. Jest ona hydrolizowana przez amylazę, co prowadzi do otrzymania rozpuszczalnych w wodzie fragmentów łańcucha skrobi, tworzących z barwnikiem

niebieskie połączenia, których absorbancja mierzona jest fotometrycznie przy długości fali 620 nm. Absorbancja roztworu jest proporcjonalna do aktywności diastatycznej próbki.

3. Aparatura i sprzęt

W metodzie używa się podstawowego sprzętu laboratoryjnego oraz:

- 1) fotometru;
- 2) mieszadła (mikrowytrząsarki);
- 3) łaźni wodnej z termostatem;
- 4) czasomierza;
- 5) wagi analitycznej, umożliwiającej ważenie z dokładnością do 1 mg i odczyt do 0,1 mg;
- 6) bibuły filtracyjnej;
- 7) kuwety 1 cm;
- 8) pipety o pojemności 1 ml i 5 ml.

4. Jeżeli w metodzie nie określono inaczej to stosuje się odczynniki o stopniu czystości: czysty do analiz (cz.d.a.). W metodzie wykorzystuje się:

- 1) test do oznaczania aktywności α -amylazy (skrobia koniugowana z błękitnym barwnikiem);
- 2) wodorotlenek sodu o stężeniu 0,5 M;
- 3) bufor octanowy (0,1M, pH 5,2): rozpuszcza się 13,6 g octanu sodu 3-wodnego w wodzie, następnie doprowadza się pH roztworu do 5,2 przy pomocy lodowatego kwasu octowego (1-2 ml) i rozcieńcza do 1 litra wodą.

5. Wykonanie oznaczenia:

- 1) przygotowuje się próbkę ślepą; umieszcza się 5,0 ml buforu octanowego w próbówce;
- 2) przygotowuje się roztwór próbki miodu; waży się 1,00 g miodu i przenosi ilościowo przy pomocy buforu octanowego do kolby miarowej o pojemności 100 ml, dopełnia do kreski buforem fosforanowym; procedurę przeprowadza się w ciągu godziny;

3) przenosi się 5,0 ml roztworu próbki do próbówki i umieszcza w łaźni wodnej o temperaturze 40°C; próbówkę z próbką ślepą również umieszcza się w łaźni wodnej o temperaturze 40°C; po upływie około 15 minut, za pomocą szczypców, do obu roztworów dodaje się po tabletkę testu do oznaczania aktywności α -amylazy (skrobia koniugowana z błękitnym barwnikiem); włącza się czasomierz;

4) miesza się roztwory przy użyciu mieszadła do momentu rozpuszczenia tabletek (około 10 sekund), a następnie przenosi się je z powrotem do łaźni wodnej; dokładnie po 15 minutach dodaje się 1 ml roztworu wodorotlenku sodu (przerwanie reakcji enzymatycznej);

5) przy pomocy mieszadła należy wymieszać roztwory ponownie przez około 5 sekund; natychmiast przefiltrowuje się roztwory przez bibułę filtracyjną i mierzy absorbancję w 1 cm kuwetach przy długości fali 620 nm stosując wodę jako próbkę referencyjną; absorbancja dla roztworu próbki ślepej jest odejmowana od absorbancji roztworu próbki (ΔA_{620}); jeśli absorbancja jest większa od 1,0, rozcieńcza się roztwór próbki wodą i uwzględnia rozcieńczenie podczas obliczania wyników.

6. Obliczenia oraz prezentacja wyników

Dla wartości liczby diastazowej (LD) z przedziału: 8-40 wyznacza się wartość LD według wzoru:

$$LD = 28,2 \times \Delta A_{620} + 2,64 ,$$

w którym:

ΔA_{620} - oznacza różnicę ekstynkcji badanego roztworu miodu i próbki ślepej,

28,2 i 2,64 - oznacza stałe uwzględniające zależność między aktywnością diastatyczną miodu.

Dla wartości liczby diastazowej (LD) z przedziału: 0-8 wyznacza się wartość LD według poniższego wzoru:

$$LD = 35,2 \times \Delta A_{620} - 0,46 ,$$

w którym:

ΔA_{620} – oznacza różnicę ekstynkcji badanego roztworu miodu i próbki ślepej,

35,2 i 0,46 - oznacza stałe uwzględniające zależność między aktywnością diastatyczną miodu.

7. Powtarzalność

Różnica między wynikami absorpcji dwóch oznaczeń przeprowadzonych jednocześnie lub w krótkim odstępie czasu na tej samej próbce, przez tego samego analityka, w tych samych warunkach, nie powinna przekraczać wartości wyliczonej według wzoru:

$$r = 0,02 + 0,03 \times A_{620} ,$$

w którym:

r - oznacza różnicę między wynikami dwóch oznaczeń przeprowadzonych jednocześnie lub w krótkim odstępie czasu na tej samej próbce, przez tego samego analityka, w tych samych warunkach,

0,02 i 0,03 – oznacza stałe uwzględniające zależność między aktywnością diastatyczną miodu,

A_{620} - oznacza średnią arytmetyczną absorpcję dwóch oznaczeń próbki przy długości fali 620 nm.

Wynik podaje się z dokładnością do pierwszego miejsca po przecinku.

8. Z analizy laboratoryjnej sporządza się protokół, który zawiera:

- 1) nazwę zastosowanej metody;
- 2) uzyskane wyniki;
- 3) wszystkie czynności niewymienione w metodzie lub uznane za nieobowiązkowe, łącznie ze szczegółami każdej okoliczności, która mogła wpłynąć na wynik oznaczenia;
- 4) informacje niezbędne do pełnego zidentyfikowania próbki.

X. METODA SPRAWDZANIA SPEŁNIENIA WYMAGAŃ ORGANOLEPTYCZNYCH MIODU

1. Definicja

Sprawdzanie spełnienia wymagań organoleptycznych miodu ocenia się badając konsystencję, barwę, zapach i smak miodu, określonych za pomocą tej metody.

2. Zasada metody

Miód bada się za pomocą narządu wzroku, węchu i smaku. Na podstawie oceny konsystencji, barwy, zapachu i smaku miodu stwierdza się czy są odchylenia od wymagań dla miodu określonych w innych aktach prawnych.

3. Badania obejmują sprawdzanie:

- 1) konsystencji;
- 2) barwy;
- 3) zapachu;
- 4) smaku;
- 5) występowania oznak fermentacji.

4. Wykonanie badań:

1) konsystencję bada się poprzez obserwację ściekania miodu z metalowego lub drewnianego mieszadła; w przypadku badania miodu skryształizowanego sprawdzanie konsystencji polega na ocenie wyglądu kryształków w rozmazie miodu na szkiełku przedmiotowym;

2) barwę bada się poprzez obserwację:

a) miodu płynnego, klarownego, bez pęcherzyków powietrza; badany miód o temperaturze $35\pm 45^{\circ}\text{C}$ powinien znajdować się w próbówce ze szkła bezbarwnego średnicy 10 mm; obserwację przeprowadza się przy świetle dziennym, oglądając próbkę pod światło,

b) powierzchni przekroju bryły miodu skryształizowanego, przy świetle dziennym;

3) zapach bada się poprzez wąchanie miodu; miód przeznaczony do badania lekko się podgrzewa i rozciera na szkiełku przedmiotowym lub blaszce aluminiowej; badanie przeprowadza się w pomieszczeniu wolnym od obcych zapachów;

4) smak bada się poprzez degustację płynnego miodu o temperaturze pokojowej;

5) oznaki fermentacji – burzenie się (pienie) w całej objętości lub na jego powierzchni, charakterystyczny zapach i posmak fermentacji - wykrywa się na podstawie oględzin zewnętrznych, zapachu oraz smaku.

5. Wyniki badań organoleptycznych opisuje się w zestawieniu tabelarycznym, w którym dla zawartości każdego zbadanego opakowania podaje się barwę, konsystencję, zapach i smak.

XI. METODY WYKRYWANIA OBECNOŚCI DEKSTRYN SKROBIOWYCH, MELASU, SKROBI, SZTUCZNYCH BARWNIKÓW I ROZKRUSZKA W MIODZIE

1. Przy pomocy metod wykrywa się obecność w miodzie:

- 1) dekstryn skrobiowych;
- 2) melasu;
- 3) skrobi;
- 4) sztucznych barwników;
- 5) rozkruszka.

2. W metodach używa się podstawowego sprzętu laboratoryjnego oraz:

- 1) stereoskopu;
- 2) mikroskopu;
- 3) łaźni wodnej z termostatem;
- 4) czasomierza;
- 5) wagi analitycznej, umożliwiającej ważenie z dokładnością do 0,001 g i odczyt do 0,0001 g.

3. Jeżeli w metodzie nie określono inaczej to stosuje się odczynniki o stopniu czystości: czysty do analiz (cz.d.a.). W metodzie wykorzystuje się:

- 1) 10% (m/m) roztwór taniny;
- 2) stężony kwas solny;
- 3) 96% (V/V) alkohol etylowy;
- 4) krystaliczny octan ołowiawy;
- 5) tlenek ołowiawy;

- 6) zasadowy octan ołowiany;
- 7) alkohol metylowy;
- 8) jod;
- 9) jodek potasu;
- 10) białą przędzę wełnianą;
- 11) 10% (m/m) roztwór węgla sodu;
- 12) 10% (m/m) roztwór kwaśnego siarczanu potasowego;
- 13) 1% (V/V) roztwór amoniaku;
- 14) 0,1 mol/l roztwór kwasu solnego;
- 15) eter naftowy;
- 16) 5% (m/m) roztwór wodorotlenku sodowego.

4. Wykrywanie obecności:

1) dekstryn skrobiowych w miodzie:

- a) odważa się 5 g miodu, rozpuszcza się go w 10 ml wody, podgrzewając na łaźni wodnej aż do uzyskania jednorodnego roztworu,
- b) dodaje się 0,5 ml 10% (m/m) roztworu taniny w celu wytrącenia białka, następnie ostudzi i po sklarowaniu odsącza lub odwirowuje,
- c) z otrzymanego przesącza pobiera się 2 ml, dodaje 2 krople stężonego kwasu solnego i 20 ml 96% (V/V) alkoholu etylowego,
- d) powstanie białego lub mlecznego zmętnienia świadczy o obecności dekstryn skrobiowych z syropu ziemniaczanego;

2) melasu w miodzie:

- a) przygotowuje się roztwór zasadowego octanu ołowianego: odważa się 15 g krystalicznego octanu ołowianego i 5 g tlenku ołowianego, rozciera razem w moździerzu, zsypuje mieszaninę do kolby stożkowej, dodaje 5 ml wody i ogrzewa na łaźni wodnej, kilkakrotnie wstrząsając, aż do otrzymania białej mieszaniny,
- b) dodaje się 45 ml gorącej wody i ogrzewa przez 15 min, kolbę zamyka i pozostawia aż do opadnięcia osadu,

c) roztwór dekantuje się z nad osadu, następnie szybko przesącza; sprawdza się ciężar właściwy, wyrażany w gramach na mililitr (g/ml),

d) do 5 ml 20% (m/m) roztworu badanego miodu dodaje się 2,5 ml zasadowego octanu ołowiawego i 22,5 ml alkoholu metylowego, następnie wymieszać,

e) wytworzenie się obfitego, brunatnożółtego osadu świadczy o zanieczyszczeniu melasem; potwierdzenie wyników można uzyskać przez stwierdzenie dużej zawartości popiołu w miodzie;

3) skrobi w miodzie:

a) przygotowuje się roztwór jodu: 1 g jodu i 2 g jodku potasu rozciera się w moździerzu z 2÷3 ml wody, następnie dodaje 300 ml wody; przesącza i przechowuje w ciemnej butelce; zamiast roztworu jodu dopuszcza się stosowanie dostępnego w handlu płynu Lugola,

b) badany miód rozcieńcza się wodą w stosunku 1:4, zagotowuje, studzi się, dodaje 2÷3 krople roztworu jodu w jodku potasowym i wstrząsa,

c) niebieskie zabarwienie świadczy o obecności skrobi w miodzie;

4) sztucznych barwników w miodzie:

białą przędzę wełnianą moczy się dokładnie przez 10 h w 10% (m/m) roztworze węglanu sodowego, następnie dokładnie wypłukuje w wodzie i wysusza w temperaturze pokojowej,

a) wykrywanie barwników kwaśnych:

- 5 mg miodu rozpuszcza się w zlewce o pojemności 50 ml w 25 ml wody, następnie dodaje się 1 ml 10% (m/m) roztworu kwaśnego siarczanu potasowego, wkłada 2 nitki wełny długości około 10 cm i gotuje na wolnym ogniu przez 10 min,

- wyjmuje się wełnę, przemywa ją wodą, wkłada do zlewki o pojemności 50 ml, zawierającej 10 ml 1% (V/V) roztworu amoniaku i kilka porcelanek, gotuje przez 30 min pod przykryciem,

- jeżeli roztwór zabarwi się, usuwa się wełnę, a na jej miejsce wkłada nową, po czym do roztworu dodaje się 1 ml 10% (m/m) roztworu kwaśnego siarczanu potasowego i gotuje przez 10 min,

- zabarwienie się wełny świadczy o obecności w miodzie sztucznego barwnika kwaśnego;

b) wykrywanie barwników zasadowych w miodzie:

- 5 g miodu rozpuszcza się w zlewce o pojemności 50 ml w 25 ml wody, dodaje 1 ml 1% (m/m) roztworu amoniaku i 2 nitki wełny, gotuje przez 10 min,

- wyjmuje się nitki, płucze je w wodzie, przenosi do zlewki o pojemności 50 ml zawierającej 10 ml wody z dodatkiem 0,1 mol/l roztworu kwasu solnego i gotuje przez 30 min;

- jeżeli roztwór zabarwi się, usuwa się wełnę, wkłada nowe nitki, dodaje 2 ml 1% (m/m) roztworu amoniaku i gotuje przez 10 min,

- zabarwienie się przędzy wełnianej świadczy o obecności w miodzie sztucznych barwników zasadowych;

5) rozkruszka w miodzie:

a) 50 g miodu, pobranego z wierzchniej warstwy, rozpuszcza się w około 200 ml gorącej wody; następnie roztwór przesącza się przez sączonek na lejku sitowym (Buchnera) podłączonym do wodnej pompy próżniowej roztwór nalewając tak, aby nie zwilżyć ścianek lejka,

b) osad przemywa 3÷4 razy gorącą wodą, następnie alkoholem etylowym i eterem naftowym; bibułę z osadem sprawdza się pod stereoskopem przy 25-krotnym powiększeniu,

c) w razie potrzeby zidentyfikowania wykrytego rozkruszka (*Thyroglyphus* sp. *Carpoglyphus* sp. *Glysohagus* sp.) przenosi się go z bibuły na szkiełko przedmiotowe, zalewa kilkoma kroplami 5% (m/m) roztworu wodorotlenku sodowego, po czym przykrywa szkiełkiem przykrywkowym i ogląda pod mikroskopem, stosując małe powiększenie;

5. Z analizy laboratoryjnej sporządza się protokół, który zawiera:

1) nazwę zastosowanej metody;

2) uzyskane wyniki;

3) wszystkie czynności niewymienione w metodzie lub uznane za nieobowiązkowe, łącznie ze szczegółami każdej okoliczności, która mogła wpłynąć na wynik oznaczenia;

4) informacje niezbędne do pełnego zidentyfikowania próbki.

XII. METODY WYKRYWANIA MIODU SFERMENTOWANEGO LUB Z ZATRZYMANĄ FERMENTACJĄ

1. Metoda określa wykrywanie występowania miodu sfermentowanego lub z zatrzymaną fermentacją na podstawie ogólnej liczby komórek drożdży oraz liczby martwych komórek drożdży znajdujących się w osadzie miodowym.

2. Zasada metody

Ogólną liczbę komórek drożdży oraz liczbę martwych komórek drożdży znajdujących się w osadzie miodowym określa się przy użyciu techniki mikroskopii fluorescencyjnej.

3. W metodach używa się podstawowego sprzętu laboratoryjnego oraz:

1) wagi analitycznej;

2) urządzenia z techniką mikroskopii fluorescencyjnej.

4. W metodach wykorzystuje się odczynniki i materiały pomocnicze według aplikacji producenta urządzenia z techniką mikroskopii fluorescencyjnej.

5. Preparat przygotowuje się według zaleceń właściwych dla danego urządzenia. Oznaczenie ogólnej liczby komórek drożdżowych oraz liczby martwych komórek drożdżowych wykonuje się według procedur właściwych dla urządzenia, za pomocą którego jest wykonywane oznaczenie.

6. Z analizy laboratoryjnej sporządza się protokół, który zawiera:

1) nazwę zastosowanej metody;

2) uzyskane wyniki;

3) wszystkie czynności niewymienione w metodzie lub uznane za nieobowiązkowe, łącznie ze szczegółami każdej okoliczności, która mogła wpłynąć na wynik oznaczenia;

4) informacje niezbędne do pełnego zidentyfikowania próbki.

Uzasadnienie

Projekt rozporządzenia stanowi wykonanie delegacji ustawowej zawartej w art. 34 pkt 2 ustawy z dnia 21 grudnia 2000 r. o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych (Dz. U. z 2005 r. Nr 187, poz. 1577, z późn. zm.), zgodnie z którym minister właściwy do spraw rynków rolnych może określić metody analiz lub inne czynności związane z dokonywaniem kontroli lub oceny niektórych artykułów rolno-spożywczych.

Obecnie żaden akt prawny nie reguluje metod analiz miodu, na podstawie których można by sprawdzać wymagania jakościowe miodu, określone w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 3 października 2003 r. w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej miodu (Dz. U. Nr 181, poz. 1773, oraz z 2004 r. Nr 40, poz. 370). W projekcie rozporządzenia opisano metody analiz miodu w zakresie oznaczania: zawartości wody, substancji nierozpuszczalnych w wodzie, fruktozy, glukozy i sacharozy, 5-hydroksymetylofurfuralu, proliny, udziału pyłku przewodniego, przewodności elektrycznej właściwej, pH i wolnych kwasów oraz liczby diastazowej. Ponadto, w projektowanym rozporządzeniu opisano metody sprawdzania spełniania wymagań organoleptycznych oraz wykrywania cech dyskwalifikujących miód. Metody te są rekomendowane przez Komisję Kodeksu Żywnościowego (FAO/WHO Codex Alimentarius) lub proponowane w ramach Polskiej Normy PN-88/A-77626:1998 *Miód pszczeli*. Wyjątek stanowi metoda wykrywania miodu sfermentowanego lub z zatrzymaną fermentacją opisana w ramach Metod wykrywania cech dyskwalifikujących miód. Umieszczenie powyższej metody zaproponował Główny Inspektorat Inspekcji Handlowej uzasadniając, że metoda ta przyczyni się do wykrywania miodu, głównie sprowadzanego z krajów trzecich, który w wielu przypadkach poddawany jest procesowi zatrzymania fermentacji. Miód sfermentowany lub z zatrzymaną fermentacją może być oferowany wyłącznie jako miód piekarniczy (przemysłowy).

Aktualnie analizy miodu wykonuje się według metod opisanych w przytoczonej wcześniej Polskiej Normie. Zgodnie z art. 5 ust. 3 ustawy z dnia 12 września 2002 r. o normalizacji (Dz. U. Nr 169, poz. 1386, z 2004 r. Nr 273, poz. 2703, z 2005 r. Nr 132, poz. 1110 oraz z 2006 r. Nr 170, poz. 1217), od dnia 1 stycznia 2003 r. stosowanie polskich norm jest dobrowolne.

Projekt rozporządzenia jest zgodny z prawem Unii Europejskiej.

Projekt rozporządzenia został ujęty w Programie prac legislacyjnych Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi na okres lipiec-grudzień 2008 r.

Stosownie do art. 5 ustawy z dnia 7 lipca 2005 r. o działalności lobbingowej w procesie stanowienia prawa (Dz. U. Nr 169, poz. 1414) projekt rozporządzenia został umieszczony na stronie internetowej Biuletynu Informacji Publicznej Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi.

Projekt niniejszego rozporządzenia nie podlega notyfikacji w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597), gdyż nie zawiera norm technicznych.

Ocena skutków regulacji

1. Podmioty na które oddziałuje projektowany akt normatywny

Projekt rozporządzenia dotyczy około 40 tys. producentów miodu oraz innych podmiotów uczestniczących w jego obrocie. Stosując przepisy projektowanego rozporządzenia, instytucje kontrolne w sposób jednolity będą mogły sprawdzać właściwości fizykochemiczne miodu określone w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 3 października 2003 r. w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej miodu.

2. Wpływ projektowanej regulacji na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie projektowanego rozporządzenia nie będzie miało wpływu na wydatki sektora finansów publicznych, w tym budżetu państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ projektowanego aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie projektowanego rozporządzenia nie będzie miało wpływu na rynek pracy.

4. Wpływ projektowanego aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Projektowane rozporządzenie zapewni jednolity sposób wykonywania analiz oraz sprawdzania wymagań organoleptycznych miodu. Ujednoczenie metod będzie miało korzystny wpływ na ocenę jakości miodu. Wejście w życie projektowanego rozporządzenia nie będzie miało innego wpływu na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw.

5. Wpływ projektowanego aktu normatywnego na sytuację i rozwój regionalny

Wejście w życie projektowanego rozporządzenia nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionalny.

6. Konsultacje społeczne

W ramach konsultacji społecznych projekt rozporządzenia został przesłany do zaopiniowania przez:

- 1) Federację Branżowych Związków Producentów Rolnych;
- 2) Krajową Izbę Gospodarczą „Przemysł Spożywczy”;
- 3) Krajową Radę Izb Rolniczych;
- 4) Krajową Radę Spółdzielczą;
- 5) Krajowy Związek Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych;
- 6) Niezależny Samorządny Związek Zawodowy Rolników Indywidualnych „Solidarność”;
- 7) Niezależny Samorządny Związek Zawodowy „Solidarność” Komisja Krajowa;
- 8) Ogólnopolskie Porozumienie Związków Zawodowych;
- 9) Ogólnopolskie Porozumienie Związków Zawodowych Rolników i Organizacji Rolniczych;
- 10) Polską Organizację Handlu i Dystrybucji;
- 11) Polski Związek Pszczelarski;
- 12) Stowarzyszenie Polska Federacja Producentów Żywności;
- 13) Stowarzyszenie Pszczelarzy Polskich „Polanka”;

- 14) Stowarzyszenie Pszczelarzy Zawodowych;
- 15) Zrzeszenie Pszczelarzy „APIPOL”;
- 16) Związek Zawodowy Centrum Narodowe Młodych Rolników;
- 17) Związek Zawodowy Rolnictwa „Samoobrona”;
- 18) Związek Zawodowy Rolników „Ojczyzna”;
- 19) Związek Zawodowy Rolników Rzeczypospolitej „SOLIDARNI”.

Uwagi do projektu rozporządzenia nadesłał jedynie Polski Związek Pszczelarski.

Uwzględniono poniższą uwagę:

Zamiast „metody analizy oznaczania”, zapisać „metody analizy”.

Nie uwzględniono poniższych uwag:

1. *„Pozostawić metodę oznaczania 5-HYDROKSYMETYLOFURFURALU zgodnie z PN-88/A–77626:1988 Miód Pszczeli p. 5.3.8 jako metodę równorzędną”.*

W projekcie rozporządzenia opisano metodę analizy – w zakresie oznaczania 5-hydroksymetylofurfuralu w miodzie, na podstawie której będą sprawdzane wymagania jakościowe miodu określone w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 3 października 2003 r. w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej miodu. Metoda analizy opisana w projekcie rozporządzenia jest rekomendowana przez Komisję Kodeksu Żywnościowego (FAO/WHO Codex Alimentarius) oraz została zaproponowana przez Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa Oddziału Pszczelnictwa w Puławach. Zgodnie z art. 5 ust. 3 ustawy z dnia 12 września 2002 r. o normalizacji, od dnia 1 stycznia 2003 r. stosowanie polskich norm jest dobrowolne, w związku z tym będzie możliwe oznaczanie 5-hydroksymetylofurfuralu zgodnie z PN-88/A–77626:1988 Miód pszczeli p. 5.3.8. z zastrzeżeniem, że w przypadkach spornych co do wyniku oznaczenia, rozstrzygającym będzie wynik uzyskany metodą analizy zawartą w projekcie rozporządzenia. W związku z tym, umieszczenie w projekcie rozporządzenia *metody oznaczania 5-hydroksymetylofurfuralu* opisanej w PN-88/A–77626:1988 Miód pszczeli p. 5.3.8., nie jest uzasadnione.

2. Wprowadzić metody oznaczania cukrów redukujących i sacharozy łącznie z melacytozą zgodnie z metodą z Polskiej Normy PN-88/A-77626:1988 Miód Pszczeli p. 5.3.4 oraz p. 5.3.5.

W rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 3 października 2008 r. w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej miodu nie określono wymagań dla cukrów redukujących i sacharozy łącznie z melacytozą. W związku z tym, projektowane rozporządzenie nie może zawierać metody analizy - oznaczanie cukrów redukujących i sacharozy łącznie z melacytozą.

3. Wprowadzenie metod HPLC wiąże się z kosztowną modernizacją laboratorium i wzrostem kosztów wykonywanych analiz.

Według informacji przekazanej przez Inspektorat Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych, laboratoria Inspekcji mają wdrożone i akredytowane (lub zgłoszone do akredytacji) proponowane w projekcie rozporządzenia metody analiz, podobnie jak inne laboratoria (ISiK; PIWET). Obecnie w Europie jest standardem wykonywanie oznaczeń metodami chromatograficznymi przez laboratoria. Proponowane metody analiz chromatograficznych są bardziej precyzyjne oraz mniej czasochłonne od metod stosowanych dotychczas.

4. Ze względu na konieczność zakupu aparatury, rozporządzenie będzie miało niekorzystny wpływ na finansową pozycję małych firm takich jak Spółdzielnia.

Projekt rozporządzenia nie nakłada obowiązku posiadania chromatografów przez małe firmy. Ponadto, zgodnie z art. 5 ust. 3 ustawy z dnia 12 września 2002 r. o normalizacji, od dnia 1 stycznia 2003 r. stosowanie polskich norm jest dobrowolne, w związku z tym nadal będzie możliwe wykonywanie analiz metodami zawartymi w PN-88/A-77626:1988 Miód pszczeli.

5. Wnioskujemy o rozszerzenie podstawy prawnej, aby objąć także kontrolę (np. Inspekcja Weterynaryjna w gospodarstwie i/lub inne Inspekcje w innych miejscach sprzedaży bezpośredniej).

Projekt rozporządzenia stanowi wykonanie delegacji ustawowej zawartej w art. 34 pkt 2 ustawy z dnia 21 grudnia 2000 r. o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych. Metody te będą mogły być stosowane również przez inne Inspekcje.

Opracowano w Departamencie

Rynków Rolnych:

Akceptował:

Za zgodność pod względem

prawnym i redakcyjnym: