

Diferite reziduuri de medicamente în miere și cele mai comune tehnici de detectare a acestora în prezent – Un minireview

Various drug residues in honey and their currently most common detection techniques - A minireview

Spiridon Ioana*, Alexandru Diana-Mihaela, Georgescu Mara

Facultatea de Medicină Veterinară, București

*ioanaspiridon16@gmail.com

Cuvinte cheie: reziduuri în miere, tehnici de detectare, antibiotice în miere, pesticide

Key words: honey residue, detection techniques, antibiotics in honey, pesticides

Rezumat

Mierea este un produs natural fabricat de albine, ce conține numeroase zaharuri simple, acizi organici, vitamine, minerale, antioxidanți și enzime, care îi oferă calități nutriționale și medicinale bune. Mierea care a intrat în contact cu substanțe străine, cum ar fi pesticidele sau antibioticele, își pierde o mare parte din proprietățile sale benefice. Pe lângă avantajele și utilitatea lor în agricultură, utilizarea pesticidelor s-a intensificat în ultima vreme și are un efect dăunător asupra albinelor și a articolelor pe care le produc. Controlul prezenței reziduurilor de pesticide este necesar, deoarece practicile apicole și agricole ar putea contamina produsele apicole cu pesticide. În apicultură, antibioticele sunt utilizate pentru a proteja albinele de o serie de boli care le afectează puii. Din cauza apariției rezistenței la oxitetraciclină, eritromicina și tilozina sunt utilizate mai frecvent pentru prevenirea, dar și pentru îngrijirea acestor boli. Mai mult de 35% din toate pesticidele vândute la nivel mondial sunt fungicide, iar utilizarea acestor produse este de așteptat să crească în anii următori. Scopul prezentei lucrări a fost acela de a prezenta și clasifica principalele clase de compuși întâlniți în miere și de a evidenția principalele tehnici de detectare a reziduurilor, utilizate în mod curent pentru controlul calității mierii.

Abstract

Honey is a natural product made by honeybees, containing numerous simple sugars, organic acids, vitamins, minerals, antioxidants and enzymes, which provide good nutritional and medicinal qualities. Honey that has come into contact with foreign substances like pesticides, or antibiotics loses a lot of its beneficial properties. In addition to their advantages and significance in agriculture, pesticide use has escalated recently and has a detrimental effect on bees and the items they produce. Controlling the presence of pesticide residues is necessary since beekeeping and agricultural practices might contaminate bee products with pesticides. In apiculture, antibiotics are used to shield bees from a range of diseases that affect their young. Due to the emergence of oxytetracycline resistance, erythromycin and tylosin are being utilized more frequently for the prevention of as well as the care of these illnesses. More than 35% of all pesticides sold worldwide are fungicides, and usage of these products is expected to rise in the coming years. The purpose of this paper was to present and classify the main classes of compounds found in honey and to highlight the main residue detection techniques used currently in honey quality control.

1. Introducere: importanța mierii, compoziție și reziduuri

Albinele din specia *Apis mellifera* generează mierea, un aliment natural, adunând nectarul din flori sau prin secreția unor componente vegetale.

Unul dintre cei mai importanți polenizatori din natură este albina. Aceasta joacă o funcție vitală în menținerea echilibrului ecologic și în avansarea dezvoltării agricole.

Componentele mierii sunt legate în principal de sursa florală de nectar, de factorii de mediu, de fiziologia albinelor, de colectarea mierii și de tratamentele ulterioare colectării.

În matricea complexă a mierii se găsesc peste 300 de grupe chimice diferite, inclusiv zaharuri (mono- și oligozaharide), acizi organici, aminoacizi, enzime, hormoni, flavonoide, vitamine, uleiuri esențiale, steroli și fosfolipide.

Numeroasele beneficii medicinale ale acestui produs natural îl fac extrem de valoros,

pe lângă aroma sa delicioasă (Hanafi and Ghani, 2027, Blaga et al., 2020).

Cu toate acestea, pesticidele provenite din tehnicile agricole și apicole pot contamina mierea, așa că este important să se monitorizeze reziduurile acestora.

Mierea poate fi utilizată ca bioindicator pentru a identifica existența poluanților din mediul înconjurător, cum ar fi metalele grele, precum și reziduurile de pesticide și antibiotice (Karazafiris et al., 2011).

O formă indirectă de poluare a mierii este reprezentată de substanțele chimice de protecție a plantelor, în special cele ale căror ingrediente active au calități sistemice, se pot transloca în nectar sau sunt persistente în mediu.

Cea de-a doua cauză de contaminare a mierii cu pesticide este reprezentată de medicamentele veterinare (acaricide) pe care apicultorii le folosesc direct în stup pentru a combate infestarea coloniilor de albine cu acarianul *Varroa destructor*.

Prin urmare, poluarea mierii poate avea loc în două moduri: direct din cauza toxinelor apicole sau indirect din activitățile agricole și din mediul înconjurător în general.

Datorită prezenței lor pe scară largă, insecticidele, hidrocarburile aromatice policiclice (HAP) și bifenilii policlorurați (PCB) se numără printre contaminanții periculoși la care poate fi expusă mierea. În agricultură, pesticidele sunt utilizate frecvent pentru a spori randamentul culturilor prin gestionarea unei varietăți de dăunători, boli și buruieni.

Cu toate acestea, aplicarea necorespunzătoare a acestor substanțe, în special a celor incluse în pesticidele organoclorurate (OCP), poate reprezenta un risc pentru sănătatea oamenilor. PCO se acumulează frecvent în mediu și au o serie de efecte negative atât asupra oamenilor, cât și asupra mediului, inclusiv preocupări semnificative privind toxicitatea pentru animalele sălbatice și persistența ridicată în mediu (Karazafiris et al., 2011; Albero et al., 2023).

Efectele asupra oamenilor includ modificări ale sistemului nervos, apariția cancerului și perturbarea sistemului endocrin.

Din cauza persistenței lor puternice în mediu, HAP și PCB se numără printre poluanții organici atmosferici periculoși care suscită o îngrijorare deosebită, pe lângă pesticide.

Combustia incompletă, erupțiile vulcanice, incendiile de pădure și emisiile autoturismelor produc HAP-uri ca produse secundare.

Cu toate acestea, din cauza persistenței lor extreme, PCB-urile sunt întotdeauna detectate în cantități infime, chiar și după ce utilizarea lor a fost interzisă la nivel mondial pentru o lungă perioadă de timp.

Acești compuși au fost folosiți ca agenți de răcire și lubrifianți în transformatoare, condensatori și alte echipamente electrice (Al-Alam et al., 2017; Abdallah et al., 2017; Blaga, et al., 2020; Mehdi, et al., 2018).

Reziduurile de antibiotice, inclusiv tetraciclina (TC), fluorochinolonele (FF) și penicilina G (PG), care se găsesc în alimentele de origine animală, cum ar fi mierea, și în mediul înconjurător, capătă o atenție sporită datorită faptului că nivelurile scăzute de antibiotice pot încuraja dezvoltarea bacteriilor rezistente la antibiotice.

Prezența acestora în miere poate avea consecințe negative asupra oamenilor, inclusiv reacții alergice, intoxicații și afectarea sistemului nervos central.

În Uniunea Europeană, antibioticele nu sunt permise pentru tratamentul albinelor din cauza preocupărilor legate de siguranța alimentară și de sănătatea umană (Scripcă et al., 2019; Ağaoğlu et al., 2020; Kumar et al., 2019).

Un ectoparazit care trăiește pe tot parcursul anului, *Varroa destructor* consumă hemolimfa atât a albinelor adulte, cât și a celor larvare.

Se consideră că acest parazit reprezintă un pericol serios pentru apicultură și s-a răspândit în întreaga lume. Se crede că este un factor principal în pierderea coloniilor.

Prin urmare, pentru a preveni răspândirea varrozei în stupi, este necesară o terapie; în caz contrar, colonia va pieri în trei până la cinci ani.

Pentru a gestiona *Varroa*, se pot folosi uleiuri esențiale de plante, cum ar fi timolul, sau acizi organici, cum ar fi acidul formic sau oxalic.

Cu toate acestea, cele mai frecvente acaricide folosite pentru a gestiona acarianul sunt cele sintetice, cum ar fi amitrazul, fluvalinatul și cumafosul.

Cu toate acestea, dacă aceste pesticide sunt folosite în mod constant în același stup, coloniile de albine pot eșua.

Comisia Europeană (2023) a stabilit limite maxime de reziduuri (LMR) pentru anumite acaricide în miere, care sunt de 0,05 mg/kg pentru acrinatrin și cipermetrin, 0,2 mg/kg pentru amitraz, 0,1 mg/kg pentru cumafos și 0,01 mg/kg pentru clorfenvinfos.

Cu toate acestea, ceara de albine nu are LMR, deși este utilizată în produsele alimentare și farmaceutice.

Dintre toate substanțele studiate, erbicidul atrazină a redus cel mai mult viabilitatea spermatozoizilor la albine; cu toate acestea, chiar și acest efect nu a fost semnificativ din punct de vedere statistic (Al-Alam et al., 2017; Blaga, et al., 2020; Abdallah et al., 2017; McAfee, et al., 2021; Pohorecka, et al., 2018).

2. Reziduuri din miere – clasificarea

Produsele apicole pot fi contaminate cu diferite substanțe prin două metode diferite: contaminare indirectă și directă.

Metoda indirectă descrie modul în care albinele furajere transportă materiale dăunătoare atunci când adună nectar, mierea de albine, apă, polen și propolis.

Puține studii abordează prezența nitrofuranilor, a toxinelor și a PCB-urilor în produsele stupilor, în timp ce multe se concentrează pe contaminarea produselor stupului cu substanțe agrochimice și metale grele.

Cea mai directă și mai semnificativă metodă se referă la amenințarea reprezentată pentru produsele apicole de insecticidele volatile, antibioticele și erbicidele utilizate în operațiunile de apicultură (Gaweł, et al., 2019; Rachid et al., 2022; Karazafiris et al., 2011).

Contaminarea indirectă a produselor apicole implică pesticide și reziduuri de antibiotice utilizate în agricultură.

Pesticidele utilizate pe diferite culturi sunt clasificate în grupe pe baza structurii chimice

(organofosfați, piretroizi, organoclorurați, carbamați, neonicotinoide etc.), a modului de acțiune (sistemic sau de contact), a țintei (insecticide, acaricide, erbicide, fungicide, bactericide, nematocide) și a sintezei (sintetice sau naturale).

Reziduurile de pesticide găsite în produsele obținute din stupii de albine sunt clasificate în patru grupe: erbicide, fungicide (difenconazol, captan, tiofanat de metil, iprodion, vinclozolin), acaricide și insecticide (organoclorurați, organofosfați, carbamați și neonicotinoizi) (Abdallah et al., 2017; Blaga, et al., 2020; Wang, et al., 2022).

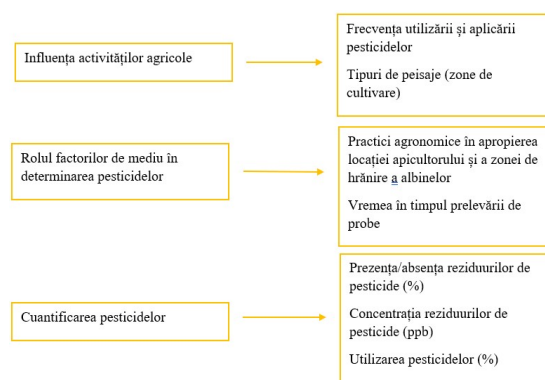


Figura 1. Factori externi care influențează nivelurile de pesticide și tipuri de cuantificare (Lucas et al., 2022; Sanchez-Bayo & Goka, 2016)

Reziduurile de antibiotice datorate utilizării în agricultură pot pătrunde în produsele apicole prin intermediul surselor din mediul înconjurător, precum și al apicultorilor.

Deoarece sulfonamidele și tetraciclinele sunt prezente în apa de băut din fermele de pui, din cuștile de iepuri și de la alte animale, albinele pot, de asemenea, să răspândească antibioticele prin apă (Wang, et al., 2022; Gaweł, et al., 2019; Migdal et al., 2018).

Contaminarea directă a produselor apicole se produce cu reziduri de acaricide, antibiotice și insecticide volatile. Ingredientele active pe care apicultorii le utilizează ei înșiși riscă să introducă reziduuri nedorite în produsele lor.

Medicamentele americane împotriva pojarului, acaricidele și antibioticele sunt utilizate pentru a combate acarianul *Varroa destructor*, noșemoza (paraziții *Nosema apis* și

Nosema ceranae) și alte infecții (Karazafiris et al., 2011; Albero et al., 2023).

Reziduurile de acaricide frecvent detectate sunt reprezentate de amitraz, cymiazol, bromopropilat, tau-fluvalinat, flumetrin, cumafos, malation.

Utilizarea malationului în apicultură nu a fost niciodată aprobată. În ciuda acestui fapt, o mulțime de apicultori îl utilizează sub formă de zahăr pudră sau ca agent de pulverizare (Albero et al., 2023).

Reziduuri de antibiotice. Apicultorii utilizează frecvent antibiotice, cum ar fi

tetraciclina, cloramfenicolul, sulfatiazolul, streptomicina, tilosina, eritromicina, ciprofloxacina, enrofloxacină, metronidazolul, fumagilina etc (Blaga et al., 2020; Buzia et al., 2019; Lei et al., 2018).

Reziduurile de insecticide volatile în produsele apicole care se întâlnesc frecvent sunt naftalină, 1,2-dibromo-etan (DBE) și 1,4-diclorobenzen (p-DCB) (Wang et al., 2022; Souza et al., 2016).

Tabel 1: Compuși analizați în miere
(Kędzińska-Matysek, et al., 2022; Souza, et al., 2016)

Categoria de utilizare	Compuși	Referințe
Erbicide	6-cloro-4-hidroxi-3-fenil piridazină (metabolit al piridatului), 6-hidroxi-bentazonă (metabolit al bentazonei), acetoclor, amidosulfuron, asulam, bentazonă, bifenox, quinochlamina, chizalofop-P-etil, chizalofop-P-tefuril, Clomazonă, Clorosulfuron, Clortoluron, Cloridazon, Cicloxidim, Desmedifam, Diflufenican, Dimetaclor, Etofumesat, Fenmedifam, Fenoxaprop-P-etil, Flazasulfuron, Florasulam, Fluazifop-P-butil, Flufenacet, Flurocloridonă, Foramsulfuron, Isoproturon, Iodosulfuron-metil-sodiu, Carbetamidă, Carfentrazon-etil, Kletodim, Lenacil, Linuron, Metamitron, Metazaclor, Metolaclor-S, Metribuzin, Metsulfuron-metil, Mesosulfuron-metil, Mesotrion, Napropamidă, Nicosulfuron, Pendimetalin, Pectoxamidă, Propachizafop, Propoxycarbazonă sodică, Propizamidă, Prosulfocarb, Rimsulfuron, Sulfosulfuron, Sulcotrion, Tembotrion, Tepraloxidim, Terbutilazină, Tifensulfuron-metil, Tralkoxidim	(Al-Alam, Fajloun, Chbani, & Millet, 2017) (Souza, Rocha, de Abreu, & Fernandes, 2016) (Kędzińska-Matysek, et al., 2022)
Insecticide	2,40 -DDT, 4,40 -DDD, 4,40 -DDE, 4,40 -DDT, 4,4-Metoxiclor, Acetamiprid, Aldrin, alfa-cipermetrin, alfa-Endosulfan, alfa-HCH, azinfos-etil, azinfos-metil, beta-ciflutrin, beta-Endosulfan, beta-HCH, Bifentrin, Clorantpriliprol, clorfenvinfos, clorpirifos-metil, clorpirifos, cis-chlordan, clotianidin, cis-eptaclor epoxid, cipermetrin, deltametrin, diazinon, dieldrin, diflubenzuron, dimetoat, endrin, endosulfan sulfat, esfenvalerat, etofenprox, Etoprofos, Fenitrotrion, Fention, Fention-sulfonă (metabolit al fentionului), Fention-sulfoxid (metabolit al fentionului), Fipronil, Fipronil-desulfenil (metabolit al fipronilului), Fipronil-carboxamidă (metabolit al fipronilului), Fipronil-sulfură (metabolit al fipronilului), Fipronil-sulfonă (metabolit al fipronilului), Flonicamid, Fosmet, HCB, Heptaclor, Heptenofos, Imidacloprid, Imidacloprid-olefină (metabolit al imidaclopridului), Imidacloprid-derivat de uree (metabolit al imidaclopridului), Indoxacarb, lambda-cihalotrin, lindan (gamma-HCH), malation, metiocarb sulfonat (metabolit al metiocarbului), metiocarb sulfoxid (metabolit al metiocarbului), metiocarb, metoxifenozidă, metidation, MITC (izotiocianat de metil) (metabolit al Metam și Dazomet), Nitenpiram, Oxiclordan, Paration etilic, Paration metil, Phoxim, Phosalon, Pirimifos etilic, Pirimifos metil, Pirimicarb, Pirimicarb-desmetil (metabolit al pirimicarbului), Piriproxifen, Profenofos, Resmetrin, Spinosin A, Spiroclorfen, Spirotetramat, Spirotetramat-enol (metabolit al	(Wang, et al., 2022) (Al-Alam, Fajloun, Chbani, & Millet, 2017) (Souza, Rocha, de Abreu, & Fernandes, 2016) (Gawel, et al., 2019) (Abdallah, Hanafi, & Abdel Ghani, 2017)

	spirotetramat), Spirotetramat-enol-glucozid (metabolit al spirotetramat), Spirotetramat-ceto-hidroxi (metabolit al spirotetramat) tau-Fluvalinat, tebufenozidă, teflubenzuron, teflutrin, tetrametrin, tiacloprid, tiacloprid-amidă (metabolit al tiaclopridului), tiametoxam, trans-clordan, trans-eptaclor epoxid, trans-permetrin, triazinfos, zeta-cipermetrin	
Fungicide	Azoxistrobin, Bixafen, Boscalid, Bupirimat, Carbendazim, Carboxin, Clorotalonil, Chimexazol, Ciflufenamidă, Ciazofamid, Cimoxanil, Ciproxanil, Ciprodinil, Ciproconazol, Difenoconazol, Dimetomorf, Dimoxistrobin, Epoxiconazol, Fenbuconazol, Fenhexamid, Fenpropidin, Fenpropimorf, Fluchinkonazol, Fludioxonil, Flusilazol, Flutriafol, Imazalil, Ipconazol, Iprodion, Isopirazam, Kresoxim-metil, Mandipropamid, Mepaniprim, Metalaxil-M (Metalaxil), Metconazol, Metrafenonă, Miclobutanil, Pencycuron, Picoxistrobin, Pirimetanil, Proquinazid, Procloraz, Propamocarb, Propiconazol, Prothioconazol-desthio (un metabolit al prothioconazolului), Piraclostrobin, Pirazofos, Quinoxifen, Siltiofam, Spiroxamină, Tebuconazol, Tetraconazol, Tiofanat-metil, Triadimefon, Triadimenol, Trifloxistrobin, Triticonazol, Vinclozolin	(Kędzierska-Matysek, et al., 2022 (Souza, Rocha, de Abreu, & Fernandes, 2016) (Abdallah, Hanafi, & Abdel Ghani, 2017)
Acaricide	Bifenazat, Bromopropilat, Clofentezină, Etoxazol, Fenazaquin, Fenpyroximat, Hexithiazox, Propargit, Tebufenpyrad	(Gaweł, et al., 2019; Al-Alam, Fajloun, Chbani, & Millet, 2017)
Medicamente de uz veterinar	Cymiazol, Coumafos, DMF (2,4-dimetilfenilformamidă) (metabolit al amitrazului), DMPF (N-(2,4-dimetilfenil)-N0 -metilformamadină) (metabolit al amitrazului)	(Kędzierska-Matysek, et al., 2022)

3. Metode de detectare

Separarea este un proces esențial care intervine după ce analiții sunt izolați din matrice. Tehnicile cromatografice reprezintă baza procedurilor de analiză a reziduurilor de pesticide și de medicamente veterinare.

Factorul principal care influențează decizia între cromatografia în fază gazoasă și cea în fază lichidă este compoziția chimică a analiților.

În comparație cu cromatografia lichidă, care a fost utilizată pentru substanțe mai puțin volatile și cu greutate moleculară mai mare, cromatografia în fază gazoasă s-a dovedit a fi o metodă eficientă pentru determinarea compușilor volatili și cu greutate moleculară mică.

Cantitatea de substanțe găsite în timpul analizei determină clasificarea tehnicilor de analiză.

Metodele cu un singur reziduu (SRM) și metodele cu reziduuri multiple (MRM) sunt cele două categorii primare. Cele mai multe substanțe chimice sunt găsite folosind tehnici cu reziduuri multiple.

Cu o singură pregătire și analiză a probei, analistul poate identifica o gamă largă de

substanțe chimice, dar anumite molecule sunt unice și pot fi recunoscute doar prin metode sofisticate (cum ar fi amitrazul din miere).

În ultimii ani, datorită îmbunătățirii semnificative a echipamentelor (GC-MS-MS, LC-MS-MS etc.), numărul de substanțe identificate a crescut considerabil și multe laboratoare pot identifica majoritatea ingredientelor active (Souza, et al., 2016; Gaweł, et al., 2019).

Numeroase reziduuri de antibiotice au fost determinate cu ajutorul testului imunoenzimatic (ELISA).

De exemplu, pentru streptomycină și tetracilină există kituri pentru fiecare tip de antibiotic [Sinogeneclon Streptomycin ELISA (SG-4011) și Sinogeneclon Tetracycline ELISA (SG-4021)] (Ağaoğlu et al., 2020).

▪ Cromatografia în fază gazoasă (GC)

Mai mult decât orice altă tehnică, cromatografia în fază gazoasă a fost utilizată pentru a găsi reziduuri de pesticide și acaricide în articolele realizate de stupii de albine.

După cum s-a indicat anterior, principala aplicație a acestei abordări este identificarea substanțelor chimice volatile și cu greutate

moleculară mică. Cu toate acestea, există cazuri în care cromatografia în fază gazoasă este utilizată pentru a examina moleculele cu greutate moleculară mai mare (cum ar fi amitrazul) în urma unor proceduri laborioase și care necesită mult timp (cum ar fi derivatizarea). În aceste cazuri, materialele au fost transformate în molecule mai volatile înainte de a fi supuse analizei gaz-cromatografice.

Sistemele gaz-cromatografice sunt împărțite în următoarele trei secțiuni majore:

a. Admisia, prima secțiune majoră, este responsabilă de asigurarea intrării probei în cromatograful cu gaz.

b. Cuptorul și coloana în care are loc separarea analitului alcătuiesc cea de-a doua secțiune.

c. Intrarea și coloana asociate cu un detector adecvat.

▪ Cromatografia lichidă (LC)

Cromatografia lichidă este utilizată pentru a izola o gamă largă de substanțe, spre deosebire de cromatografia în fază gazoasă, care se limitează la identificarea celor mai volatili compuși.

Este posibil ca aceste substanțe să nu fie suficient de volatile din punct de vedere termic sau suficient de volatile pentru analiza prin cromatografie în fază gazoasă.

În cazul cromatografiei lichide, detectorii cu matrice de diode (DAD), detectorii ultraviolet/vizibil (UVD) și detectorii fluorescenți (FLD) au fost cele mai des utilizate tipuri de detectoare. Spectrometria de masă (MS) este o

tehnologie de detecție care devine din ce în ce mai populară.

▪ Cromatografie în strat subțire (TLC)

Principala utilizare a acestei metode este detectarea produselor farmaceutice în probele biologice. Pentru a determina reziduurile de pesticide din alimente, se utilizează în special TLC.

În general, TLC necesită separarea blocurilor cu ajutorul unui mediu de acoperire adecvat (cum ar fi silicagelul) și extragerea probei cu ajutorul unui amestec de solvenți.

Metodele enumerate mai sus pot detecta, de asemenea, elemente minerale și metale grele în miere (Kasiotis et al., 2023; Souza et al., 2016).

▪ Metodele de determinare a reziduurilor de insecticide volatile (DBE- 1,2-dibromo-etan; p-DCB-1,4-dicloro-benzen; naftalină) în produsele apicole sunt: GC-MS (cromatografie în fază gazoasă-spectrometrie de masă), HPLC (cromatografie lichidă de înaltă performanță), HPLC-UV (cromatografie lichidă de înaltă performanță cu detecție în ultraviolete), HPLC-DAD (cromatografie lichidă de înaltă performanță cu detecție Diode-Array), HPLC ASE (cromatografie lichidă de înaltă performanță cu solvent de extracție accelerată), UHPLC-MS (cromatografie lichidă de înaltă performanță-spectrometrie de masă în tandem) (Portakal & Yarsan, 2023; Karazafiris et al., 2011; Díaz, et al., 2023).

Tabelul 2. Eșantioane pentru analiza pesticidelor din miere prin cromatografie lichidă
(Souza et al., 2016; Almeida, et al., 2020)

Clase (și număr) de pesticide analizate	Separare/ Detecție
Acilaminoacizi, benzofurani, anilinopirimidine, carbamați, ariloxifenoxipropionați, benzimidazoli, carbanilat, carboxamide, cloroacetamide, cianoimidazol, diacilhidrazine, dicarboxamide, dinitroaniline, hidroxianilide, imidazoli, morfoline, neonicotinoide, organofosforice, oxadiazină, fenilamide, fenilpirazol, feniluree, fosforotiol, pirazoli, piretroizi, piridine, piridazinonă, pirimidine, ester de sulfat, triazine, tetrazină, acid tetronic, triazoli și alte pesticide neclasificate	LC-MS/MS
Amidine, avermectine, difenil oxazolină, formamidină, pirazol, fenilpirazol, carboxamidă, ester de sulfat, nicotinoizi, piridazinonă, tiazolidină	LC-MS/MS
Clorofenoli (6 pesticide)	HPLC-UV
Neonicotinoide (7 pesticide)	HPLC-UV
Organofosforice (14 pesticide)	LC-MS/MS
Anilinopirimidină, ariloxifenoxipropionat, anilinopirimidină, cloroacetamidă, organofosforică, strobilurină, piridazinonă, cianoacetamidă oxime, benzoiluree,	LC-ESI-MS/ MS

morfolină, neonicotinoid, quinazolină, imidazol, triazol, piretroizi, pirazol, pirazol, fenilamidă, fosforotolat, sulfoniluree, oxatiină, oxadiazină, carbamat, cloroacetamidă, triazină, tiocarbamat și altele neclasificate (30 pesticide)	
Organofosforice, carbamați (10 pesticide)	HPLC-UV
Neonicotinoide (6 pesticide)	UHPLC/ MS-MS
Neonicotinoide (7 pesticide)	LC-MS/MS
Piretroizi (4 pesticide)	HPLC-UV
Organofosforice, organoclorurați, carbamați, piretroizi, biopesticide, uree, neocotinoide, triazine, triazoli (350 de pesticide)	UHPLC-Orbitrap-MS
Alchilclorofenoxi, feniluree, fenilpirazol (3 pesticide)	HPLC-UV
Amidină, benzimidazol, organofosfor, fenilpirazol, piretroid, neonicotinoid, triazol (8 pesticide)	LC-APCI- MS/MS

Tabelul 3: Alți compuși analizați prin LC-MS/MS
(Abdallah, Hanafi, & Abdel Ghani, 2017; Almeida, et al., 2020)

Compuși	Detectie
Propamocarb, metomil, tiametoxam, carbendazim, imidacloprid, dimetoat, acetamiprid, tiacloprid, aldicarb, carbofuran, simazină, carboxin, clorantropilol, tiocarb, izoproturon, metalaxil, azoxistrobin, flurtamonă, dietofencarb, metoxifenoizidă, metiocarb, fenexamidă, flusilazol, fenoxicarb, anilofos, penconazol, indoxacarb, difenoconazol, trifloxistrobin, benzoat de emamectin, buprofezin, oxadiazon, hexitiazox, teflubenzuron, piridaben.	LC-MS/MS

În conformitate cu Directiva 2001/110/CE a Consiliului din 20 decembrie 2001 privind mierea, acesteia nu i se pot adăuga ingrediente alimentare, inclusiv aditivi alimentari, și nici nu i se pot face alte adăugiri în timp ce este vândută ca miere sau utilizată în produse destinate consumului uman.

Pe cât posibil, mierea nu ar trebui să conțină materiale organice sau anorganice străine.

În conformitate cu Directiva 2001/110/CE a Consiliului, pentru ca mierea să fie vândută sau utilizată în orice produs destinat consumului uman, aceasta trebuie să îndeplinească următoarele cerințe de compoziție.

Conținutul de fructoză și glucoză (suma celor două) în mierea de flori nu trebuie să fie mai mic de 60 g/100 g, iar în mierea de miere de albine, amestecurile de miere de albine cu miere de flori nu trebuie să fie mai mic de 45 g/100 g. Conținutul de zaharoză, în general, nu trebuie să fie mai mare de 5 g/100 g.

Conținutul de umiditate nu trebuie să depășească, în general, 20%, iar apoi conținutul de insolubilitate în apă, în miere, în general, să nu depășească 0,1g/100g, iar în mierea presată să nu depășească 0,5g/100g.

Conductivitatea electrică, în majoritatea tipurilor de miere, cu excepția mierii de căpșun (*Arbutus unedo*), *Erica* de eucalipt, de tei (*Tilia*

spp.), de iarbă neagră (*Calluna vulgaris*), de manuka (*leptospermum*), de arbore de ceai (*Melaleuca spp.*), nu trebuie să depășească 0,8 mS/cm.

Alți parametri obligatorii care trebuie analizați sunt aciditatea liberă, care, în general, trebuie să fie mai mică de 50 miliechivalenți de acid la 1000 de grame, activitatea diastazei, nu mai mică de 8, iar pentru mierea cu un conținut redus de enzime și cu un conținut de HMF de cel mult 15 mg / kg nu trebuie să fie mai mică de 3.

Nu în ultimul rând, se determină, de asemenea, conținutul de hidroximetilfurfural (HMF) al mierii, care, în general, nu trebuie să depășească 40 mg/kg, existând, desigur, și excepții care pot fi văzute în Directiva 2001/110/CE a Consiliului (Directiva 2001/110/CE a Consiliului din 20 decembrie 2001 privind mierea).

Contaminanții analizați în conformitate cu Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 al Comisiei sunt: nivelurile de nitrați, micotoxine, metale, 3-monocloropropan-1,2-diol (3-MCPD), dioxine, PCB și hidrocarburi aromatice policiclice (Regulamentul (CE) Nr. 1881/2006 al Comisiei din 19 decembrie 2006 de stabilire a nivelurilor maxime pentru anumiți contaminanți din produsele alimentare).

Alimentele nu pot include nici o cantitate de cloramfenicol sau de metaboliți ai acestuia la un nivel sigur care să prezinte un risc pentru consumatori (Additives, 2004).

Ca metode de testare, de exemplu, pentru depistarea cloramfenicolului și a sulfonamidelor în miere, se poate folosi kitul de testare rapidă bioeasy, care se bazează pe tehnologia de imunocromatografie cu aur coloidal (Georgescu, 2019).

4. Discuții - variații ale rezultatelor în funcție de țară și regiune

Studiul realizat de Kumar și col., (2019) a aratat că în 15,3 % din probele de miere, s-a găsit oxitetraciclină, acesta fiind considerat antibioticul cel mai frecvent utilizat de apicultori împotriva infecțiilor bacteriene cu febra bacteriană a albinelor.

Cu câteva excepții, nivelurile de streptomycină au fost frecvent mai ridicate în același eșantion în cadrul unei cercetări din Turcia. În plus, mierea ambalată are o rată pozitivă și un nivel rezidual mai mare de streptomycină și tetraciclină (Ağaoğlu et al., 2020).

Kędzierska-Matysek, și col., au concluzionat în studiul lor din 2022 (*Residues of Pesticides and Heavy Metals in Polish Varietal Honey*) că 90% din probele care au fost analizate au prezentat dovezi de reziduuri de pesticide, însă cantitățile nu au fost mai mari decât nivelurile de reziduuri permise, iar substanțele identificate cel mai frecvent au fost tiaclopid, acetamiprid și carbendazim în mierea produsă în sud-estul Poloniei.

Concentrația de metale în organismele albinelor este influențată de pesticidele care au metale ca ingrediente active.

Cercetările privind pesticidele relevă faptul că pesticidele mai hidrofobe pot pătrunde adânc în corpul albinelor, în timp ce pesticidele mai polare se găsesc la suprafața corpului lor.

Cercetările demonstrează că traiul într-un oraș mare este mai plăcut pentru aceste insecte utile (Migdał et al., 2018; Sadowska et al., 2019).

Tehnica QuEChERS a fost utilizată cu succes pentru a elimina reziduurile de pesticide din miere în marile centuri forestiere din Ghana.

S-au găsit cantități foarte mici de Aldrin, γ -HCH, β -HCH, cipermetrin, ciflutrin, clorpirifos, deltametrin, DDT, dimetoat, diazinon, endosulfan, fenvalerat, permetrin metoxiclor și malation (Darko et al., 2017; Ligor et al., 2020).

Neonicotinoidele au fost cele mai frecvent detectate pesticide și au fost, de asemenea, descoperite în cantități mai mari.

Alte pesticide care pot contamina mediul înconjurător și dăuna sănătății oamenilor și albinelor includ erbicidele, fungicidele și organofosfații.

Constatările studiului demonstrează că pesticidele foarte dăunătoare, inclusiv imidaclopid, sunt prezente și sunt mai frecvente și mai concentrate în zona sudică din mierea produsă în Jalisco (Mexic), unde se practică o agricultură intensă și foarte tehnologizată (Ponce-Vejar et al., 2022).

Într-un alt studiu, probele din centrul și nord-estul Mexicului au avut cele mai mari concentrații de pesticide, în timp ce cele din sud-estul Mexicului au avut cele mai scăzute niveluri.

Albinele sunt expuse la imidaclopid și clorpirifos în Mexicul Central, iar la tiabendazol, fenilfenol, malation și clorpirifos în nord-estul Mexicului (Valdovinos-Flores et al., 2017).

Cercetătorii au examinat 155 de probe de miere care au fost produse în Kosovo și miere importată, utilizând tehnica ELISA pentru a verifica prezența antibioticului streptomycină.

În 155 de probe, streptomycină a fost găsită în 29% dintre probe, în cantități cuprinse între 2,1 și 9,3 $\mu\text{g/kg}$, în timp ce aceasta era absentă din 71% dintre probe (Rama et al., 2022).

Cercetătorii din Franța nu au descoperit nicio corelație între prezența reziduurilor de pesticide și variațiile numărului de adulți sau de puieți sau mortalitatea coloniilor (Chauzat et al., 2009).

Probele de miere din Slovenia au arătat că într-unul dintre aceste eșantioane a fost găsit un reziduu de pesticid provenit din mediul înconjurător (insecticidul tiaclopid), în timp ce aproximativ jumătate dintre eșantioane conțineau reziduuri de medicamente de uz veterinar precum amitraz, cumafos și/sau timol (Česnik et al., 2019).

În România, este prezent hexaconazolul, precum și tiabendazolul în grupa alcătuită din miere de rapiță de la Sibiu, floarea-soarelui și tei de la Galați.

Niciuna dintre aceste substanțe chimice nu a fost detectată în trei probe de miere (miere de mentă din Iași, miere de hrișcă din Sibiu și miere polifloră din Vâlcea).

Deoarece amitrazul este instabil în starea acidă naturală a mierii, acesta nu a fost detectat în niciuna dintre probele examinate.

Resturi de carbendazim, care a fost aplicat pe floarea-soarelui în timpul creșterii, au fost detectate atât în probele de miere din Iași, cât și în cele din Galați, la o concentrație de aproximativ 5 lg/kg.

Probele de miere de albine, de primăvară și de polifloră au inclus reziduuri de fungicide (propiconazol, penconazol și metalaxil) pulverizate pe pomii fructiferi în primăvară.

S-a descoperit că imazalilul, propiconazolul și tebuconazolul erau prezenți în mierea de rapiță.

Tebuconazolul și imazalilul au fost cei mai răspândiți doi poluanți găsiți în eșantionul de miere de rapiță prelevat din județul Iași.

Mierea de primăvară care a fost obținută din județul Iași a inclus șase substanțe chimice care au fost identificate: imazalil, flusilazol, tebuconazol, ciproconazol și hexaconazol (Blaga et al., 2020).

Tabelul 4: Limitele maxime de reziduuri în Europa (Regulamentul (CE) NR. 1881/2006,

(<https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/mrls>)

Reziduuri de pesticide	Nivelul maxim de reziduuri (mg/kg)
1,1-Dicloro-2,2-bis(4-etilfenil)etan, 1,2-dibromoetan (dibromură de etilenă), 1,2-dicloroetan (diclorură de etilenă)	0,05
Metilesterul acidului 2,5-diclorobenzoic, 2-amino-4-metoxi-6-(trifluormetil)-1,3,5-triazină (AMTT), Aldrin și Dieldrin, Clordan, Clorfenvinfos, Clorpirifos, Hexaclorobenzen, Monuron, Diazinon, Endrin, Lindan, compuși ai mercurului.	0,01
Amitraz, Tiacloprid	0,2
Antrachinona	0,02
Acrinatrîn, Atrazină, Azoxistrobin, Benalaxil, Bensulfuron-metil, Bentiavalicarb, Bifenazat, Bifenox, Bifentrin, Bifenil, Bromofos-etil, Bromopropilat, Bromuconazol, Butralin	0,05
Boscalid	0,15
Camphechlor (Toxaphene), Captan, Carbaryl, Carbofuran, Chlorotoluron, Chloroxuron, Chlorsulfuron, Clothianidin, Cyfluthrin, Cymoxanil, Cypermethrin, Cyproconazol	0,05
Cumafos, Metribuzin	0,1
DDT, Deltametrin, Difenconazol, Diflubenzuron, Dimoxistrobin, Diniconazol, Dioxation, Difenilamină, Ditiocarbamați	0,05
Epoxiconazol, Ethoxysulfuron, Etoxazol, Etridiazol	0,05
Fenbuconazol, Fenoxicarb, Fenpyrazamină, Fenvalerat, Flucitrinat, Flufenoxuron, Flufenacet, Flumetralin, Fluquinconazol, Fluvalinat, Foramsulfuron, Hexythiazox	0,05
Fiponil	0,005
Imazalil, Imazapic, Imazapyr, Imidacloprid, Indoxacarb, Ipconazol	0,05
Linuron, Lufenuron, Malathion, Mandestrobin, Metaldehidă, Metconazol, Metiocarb, Milbemectin, Novaluron, Oxadiazon, Fenotrin, Pirimicarb, Profenofos, Propanil, Propiconazol, Propoxur, Pimetrozină, Pirazofos, Resmetrin, Sulfosulfuron.	0,05
Tebuconazol, teflutrin, teflutrin, terbutilazină, tiabendazol, tiametoxam, tiobencarb, triazoxid, valifenalat, vinclozolin	0,05

Prin comparație, nivelurile maxime de reziduuri diferă considerabil în țările non-europene față de cele din Europa. De exemplu, în Australia Boscalidul are LMR de 0,5 mg/kg,

pentru Captan 0,1 mg/kg, carbaril 0,02 mg/kg, cipermetrin și ciproconazol 0,01 mg/kg, fenbuconazol 0,02 mg/kg, fenoxicarb 0,1 mg/kg, fenvalerat 0,01 mg/kg, fluquinconazol și

fluvinat 0,02 mg/kg (Australia New Zealand Food Standards Code).

Concluzii

Controlul reziduurilor de pesticide, insecticide, antibiotice și alți compuși din produsele apicole este esențial pentru a ne asigura ca produsele date spre consum nu sunt contaminate și își păstrează calitățile.

Cea mai utilizată metodă de detecție în studiile investigate a fost reprezentată LC-MS/MS și GC-MS.

Din cauza criteriilor agențiilor de reglementare, care stabilesc limitări și mai mici, UHPLC și spectrometria de masă în tandem sunt considerate frecvent cele mai bune metode.

Aceste criterii sunt îndeplinite de acești detectori datorită sensibilității și selectivității lor excelente, precum și datorită identificării precise a analiților la limite de detecție foarte scăzute.

Metodele de detecție descrise pot fi utilizate, de asemenea, pentru detectarea elementelor minerale și a metalelor grele, împreună cu multitudinea de reziduuri de pesticide, acaricide, antibiotice (cloramfenicol, β -lactame: Peniciline și Cefalosporine, Sulfonamide, Tetraciclone) și alte reziduuri de medicamente.

În general, rezultatele studiilor au arătat că nivelul pesticidelor, inclusiv al erbicidelor și insecticidelor, nivelul acaricidelor și al antibioticelor nu au depășit limitele admise.

Variatatea rezultatelor obținute este influențată de condițiile de mediu, adică de utilizarea pesticidelor în agricultură, de utilizarea antibioticelor fie preventiv, fie terapeutic sau de utilizarea diferitelor tratamente în interiorul stupului.

Extinderea analizei gamei de reziduuri în studiile științifice ar echilibra situația actuală de contaminare și protecția acordată de normele legislative actuale.

Bibliografie:

1. **Abdallah O, Hanafi A, Abdel Ghani S** (2017). Pesticides contamination in

Egyptian honey samples. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 12: 317–327.

2. **Ağaoğlu S, Alemdar S, Ercan N** (2020). Antibiotic Residues in Filtered Honeys. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 8(11): 2408–2415.
3. **Al-Alam J, Fajloun Z, Chbani A, Millet M** (2017). A multiresidue method for the analysis of 90 pesticides, 16 PAHs, and 22 PCBs in honey using QuEChERS-SPME. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409(21): 5157-5169.
4. **Albero B, Miguel E, García-Valcárcel A** (2023). Acaricide residues in beeswax. Implications in honey, brood and honeybee. *Environmental Monitoring and Assessment*, 195(4): 454.
5. **Almeida M, Oloris S, Faria V, Ribeiro M, Cantini D, Soto-Blanco B** (2020). Optimization of Method for Pesticide Detection in Honey by Using Liquid and Gas Chromatography Coupled with Mass Spectrometric Detection. *Foods*, 9(10): 1368.
6. Australia New Zealand Food Standards Code (Food Standards Australia New Zealand Act 1991) (<https://www.legislation.gov.au/Details/F2023C00814>)
7. **Baša Česnik H, Kmecl V, Velikonja Bolta Š** (2019). Pesticide and veterinary drug residues in honey - validation of methods and a survey of organic and conventional honeys from Slovenia. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 36(9): 1358-1375.
8. **Blaga G, Chițescu C, Lisă E, Dumitru C, Vizireanu C, Borda D** (2020). Antifungal residues analysis in various Romanian honey samples analysis by high resolution mass spectrometry. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 55(5): 484-494.
9. **Buzia O, Ploscutanu G, Elisei A** (2019). Tetracyclines Residues in Honey. *Revista de Chimie -Bucharest- Original Edition-*, 70(5): 1544-1550.
10. **Chauzat MP, Carpentier P, Martel A, Bougeard S, Cougoule N, Porta P,**

- Lachaize J, Madec F, Aubert M, Faucon JP** (2009). Influence of pesticide residues on honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony health in France. *Environmental Entomology*, 38(3): 514-523.
11. **Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006** setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:EN:PDF>
 12. **Darko G, Addai Tabi J, Adjaloo M, Borquaye L** (2017). Pesticide Residues in Honey from the Major Honey Producing Forest Belts in Ghana. *Journal of Environmental and Public Health*, 2017: 7957431.
 13. **Díaz M, O'Connell D, Jordan S, O'Connor C, Martin P, Jones J, Garvey J** (2023). Analysis of Pesticide Levels in Honey and Pollen from Irish Honey Bee Colonies Using a Modified Dutch Mini-Luke Method with Gas and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(34): 12657–12667.
 14. **Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey.** <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:010:0047:0052:EN:PDF>
 15. **EU Pesticides Database (v3.1).** <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/mrls>
 16. **Gaweł M, Kiljanek T, Niewiadowska A, Semeniuk S, Goliszek M, Burek O, Posyniak A** (2019). Determination of neonicotinoids and 199 other pesticide residues in honey by liquid and gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 282: 36-47.
 17. **Georgescu M** (2019). Animal Derived Food, Laboratory Analysis. CD Press, Bucharest.
 18. **Karazafiris E, Tananaki C, Thrasylvoulou A, Menkissoglu-Spiroudi U** (2011). Pesticide Residues in Bee Products. *InTech, Pesticides in the Modern World*: 89-126, doi: 10.5772/19409.
 19. **Kasiotis K, Zafeiraki E, Manea-Karga E, Anastasiadou P, Machera K** (2023). Pesticide Residues and Metabolites in Greek Honey and Pollen: Bees and Human Health Risk Assessment. *Foods*, 12(4): 706.
 20. **Kędzińska-Matysek M, Teter A, Skąlecki P, Topyła B, Domaradzki P, Poleszak E, Florek M** (2022). Residues of Pesticides and Heavy Metals in Polish Varietal Honey. *Foods*, 11(15): 2362.
 21. **Kumar A, Gill JP, Bedi JS, Chhuneja PK, Kumar A** (2019). Determination of antibiotic residues in Indian honeys and assessment of potential risks to consumers. *Journal of Apicultural Research*, 59(1): 25-34.
 22. **Lei H, Guo J, Lv Z, Zhu X, Xue X, Wu L, Cao W** (2018). Simultaneous Determination of Nitroimidazoles and Quinolones in Honey by Modified QuEChERS and LC-MS/MS Analysis. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2018: 4271385.
 23. **Ligor M, Bukowska M, Ratiu I, Gadzała-Kopciuch R, Buszewski B** (2020). Determination of Neonicotinoids in Honey Samples Originated from Poland and Other World Countries. *Molecules*, 25(24): 5817.
 24. **Lucas K, Fweja L, Mihale M** (2022). Determining Pesticide Residues in Bee produce and their Potential Risk to Consumers in Tanzania. *International Journal of Agriculture*, 7(1): 26-42.
 25. **McAfee A, Milone J, Metz B, McDermott E, Foster L, Tarpay D** (2021). Honey bee queen health is unaffected by contact exposure to pesticides commonly found in beeswax. *Scientific Reports*, 11(1): 15151.
 26. **Mehdi Y, Mutlaq A, Al-Balas Q, Azzi E, Bouadjela L, Taïbi N, Dakiche H, Touati L, Boudriche L, Bachari K** (2018). Physicochemical characterization and determination of chloramphenicol residues and heavy metals in Algerian honeys. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 33322–33333.

27. **Migdał P, Roman A, Popiela-Pleban E, Kowalska-Górska M, Opaliński S** (2018). The Impact of Selected Pesticides on Honey Bees. *Polish Journal of Environmental Studies*, 27(2): 787-792.
28. **Pohorecka K, Kiljanek T, Antczak M, Skubida P, Semkiw P, Posyniak A** (2018). Amitraz Marker Residues in Honey from Honeybee Colonies Treated with Apiwarol. *Journal of Veterinary Research*, 62(3): 297-301.
29. **Ponce-Vejar G, Ramos de Robles S, Macias-Macias J, Petukhova T, Guzman-Novoa E.** (2022). Detection and Concentration of Neonicotinoids and Other Pesticides in Honey from Honey Bee Colonies Located in Regions That Differ in Agricultural Practices: Implications for Human and Bee Health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(13): 8199.
30. **Portakal P, Yarsan E** (2023). Investigation of the activity of different pharmaceutical formulations including coumaphos against *Varroa jacobsoni* in naturally infested honey- bee colonies and analysis of the residue in honey. *Advances in Food Sciences*, 35(4): 177-180.
31. **Rachid B, Jaber A, Cheble E** (2022). Multiresidue chromatographic method for the determination of antibiotic residues in honey by high-performance liquid chromatography with DAD detection. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(Suppl 1): 157-161.
32. **Rama A, Haziri I, Miftari I, Zuka A, Zhuri B, Latifi A, Hasani D, Latifi F** (2022). Determination of streptomycin residues in imported and locally produced honey in Kosovo. *International Journal of Food Contamination*, 9(10), <https://doi.org/10.1186/s40550-022-00096-3>
33. **Sadowska M, Gogolewska H, Pawelec N, Sentkowska A, Krasnodębska-Ostręga B** (2019). Comparison of the contents of selected elements and pesticides in honey bees with regard to their habitat. *Environmental Science and Pollution Research*, 26: 371–380.
34. **Sanchez-Bayo F, Goka K** (2016). Impacts of Pesticides on Honey Bees. *InTech*: 77-97.
35. **Scripcă L, Norocel L, Amariei S** (2019). Comparison of Physicochemical, Microbiological Properties and Bioactive Compounds Content of Grassland Honey and other Floral Origin Honeys. *Molecules*, 24(16): 2932.
36. **Souza Tette PA, Rocha GL, de Abreu Gloria MB, Fernandes C** (2016). Pesticides in honey: A review on chromatographic analytical methods. *Talanta*, 149(2016): 124-141.
37. **Valdovinos-Flores C, Alcantar V, Gaspar O, Saldaña-Loza L, Dorantes-Ugalde J** (2017). Agricultural pesticide residues in honey and wax combs from Southeastern, Central and Northeastern Mexico. *Journal of Apicultural Research*, 56(5): 667-679.
38. **Wang F, Wang Y, Li Y, Zhang S, Shi P, Li-Byarlay H, Luo S.** (2022). Pesticide residues in beebread and honey in Apis cerana cerana and their hazards to honey bees and human. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 238: 113574.