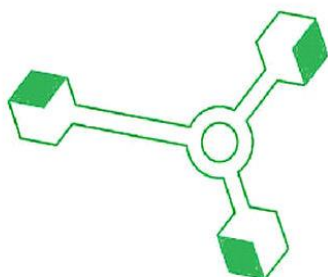


Eesti Keskkonnauuringute Keskus
Estonian Environmental Research Centre

MESILASVAHAST PROOVIDE VÕTMISE METOODIKA VÄLJATÖÖTAMINE

Tallinn 2020



Töö nimetus:

Mesilasvahast proovide võtmise meetodika väljatöötamine

Töö autor

Riin Rebane

Töö tellija:

Maaeluministeerium

Töö teostaja:

Eesti Keskkonnauuringute Keskus OÜ

Marja 4D

Tallinn, 10617

Tel. 6112 900

Fax. 6112 901

info@klab.ee

www.klab.ee

Lepingu nr: Töövõtuleping nr 80

Töö valmimisaeg: 01.12.2020

Sisukord

MÕISTED	4
LÄHTEÜLESANNE	6
TÖÖ ÜLEVAADE	7
1. MESILASVAHA	8
2. SAASTEAINED MESILASVAHAS	9
2.1. SAASTEAINETE ESINEMINE MESILASVAHAS	9
2.2. TAIMEKAITSEVAHENDITE TOIMEAINETE JAOTUMINE MESILASVAHA JA MEE VAHEL.....	11
3. PROOVIVÕTU PLANEERIMINE	13
3.1. KÄRJEÕHI JA ÜLESEHITATUD KÄRG	13
3.2. VABALT TEKKINUD KÄRG	13
3.3. PROOVIVÕTU ASUKOHA VÄLJASELGITAMINE ÜLESEHITATUD KÄRJE KORRAL.....	14
3.4. PROOVIVÕTU VALIM.....	15
4. MESILASVAHA PROOVIVÕTT, TÖÖTLEMINE JA HOIUSTAMINE	16
4.1. PROOVIVÕTJA	16
4.2. PROOVIVÕTT MESILASVAHAST	16
4.2.1. <i>Proovivõtuvahendid</i>	16
4.2.1. <i>Proovivõtuvahendite ja anumate puhastamine</i>	16
4.2.2. <i>Üldised nõuded proovivõtule</i>	17
4.2.3. <i>Proovivõtt kärjepõhjadest</i>	17
4.2.4. <i>Proovivõtt vahaketastest (toorvahast)</i>	17
4.2.5. <i>Proovivõtt ülesehitatud kärjest</i>	17
4.2.6. <i>Proovivõttuprotokoll</i>	18
4.3. MESILASVAHA PROOVI EELTÖÖTLUS	19
4.4. MESILASVAHA PROOVIDE SÄILITAMINE.....	19
KOKKUVÕTE	20
KASUTATUD KIRJANDUS	21

Mõisted

Mesindusega seotud mõistete selgitused pärinevad erinevatest mesinduskäsiraamatutest (Karise et al., 2016; Riis, 2014; Sildnik, 2016).

Akaritsiid - Lestaliste seltsi kuuluvate kahjurite tõrjeks kasutatav keemiline vahend.

Fungitsiid - Kemikaal, millega tõrjutakse taimede seenhaigusi.

Haudmekärg - Asub pesa keskel ja neis arenevad haudmeperioodil erinevad mesilasisendid – töomesilased ja lesed. Samadesse haudmekärgedesse võivad mesilased pärast isendite koorumist paigutada mee, ja siis on need meekärjed või ka suirakärjed, talvepesas söödakärjed

Herbitsiid - Kemikaal, mida kasutatakse umbrohu ja soovimatute taimede hävitamiseks.

Insektitsiid - Kemikaal, mille ülesandeks on hävitada putukkahjureid

Kaanetisvaha - Meekannudelt kaanetise eemaldamisel saadud vaha.

Kärjevaha - Ülesehitatud kärjest saadud vaha

Kärg - Mesilaste vahast ehitis, mis koosneb vahalehest ja selle mõlemale poolele kinnituvatest (vahalehele ehitatud) kärjekannudest. Vahaleht (nn vahesein) moodustab kõigi kärjekannude põhja (kärjepõhja).

Kärjepõhi - Vahaleht, mille mõlemal poolel on kärjekannude põhjade korrapärased süvendid. Kärjekannupõhjalise mustri vahast leht (kärjepõhi) paigutatakse kärjeraami traatidele.

Kärjeraam - Peamiselt puidust (harvem plastist) raam, mille külge kinnitub kärg või millesse kinnitatakse mesilasvahast kärjepõhi.

Lipofiilsus - Aine omadus, mis viitab aine võimele lahustuda lipiidides või rasvades. Kuna lipiidid ja rasvad on mittepolaarsed, on ka lipofiilsed ained mittepolaarsed.

Mahevaha - Mahepõllumajanduslikust mesindusest saadud vaha.

Meekärg - Mesilasvahast töölis- ja lesekanudega kärjed, millesse mesilased on paigutanud mee. Valmis meega kärjekannud kaanetatakse vahakaanekestega. Talvepessa jäänud meekärgi nimetatakse söödakärgedeks.

Mesi¹ - Looduslik magus aine, mida toodavad *Apis mellifera* mesilased taimede nektarist ning elusate taimeosade ja neist toituvate putukate eritistest, mida mesilased koguvad, seda endile eriomaste ainetega ühendades muundavad, kärjekannudesse paigutavad, seal kuivatavad ja ladustavad ning lõpuks sinna küpsema ja valmima jätavad

Mesilasvaha - 12–18-päevaste töomesilaste vahanäärmete eritis, millest valmistatakse kärjekannud uue põlvkonna kasvatamiseks ja toidutagavara paigutamiseks.

Proovivõtt² - Proovi koostamiseks ja moodustamiseks kasutatav menetlus.

Taimekaitsevahend³ -Taimekaitsevahend on ühte või mitut toimeainet sisaldav toode, mis on ette nähtud taimede ja taimsete saaduste kaitsmiseks taimekahjustajate eest ning mittesoovitavate taimede, taimeosade või taimekahjustajate hävitamiseks.

Toimeaine² - Toimeaine on aine, mis on mõeldud üldise või spetsiifilise mõju avaldamiseks taimekahjustajale, taimele või taimsele saadusele.

Vahaketas - Vaha toormassi (sh sulatusele minevad kärjed, kärjekaanelis, vahakaaped ja -jäätmel) sulatamisel saadud vaha, mis hangumisel võtab anuma (näiteks ämber) kuju ja mille tulemusel saadakse vahaketas. Nõu, milles vaha hangub on koonuse kujuline, siis on

¹ Mee koostis- ja kvaliteedinõuded ning toidualase teabe esitamise nõuded - RT I, 25.11.2014, 15

² KOMISJONI DIREKTIIV 2002/63/EÜ, 11. juuli 2002, millega kehtestatakse ühenduse proovivõtumeetodid taimsetes ja loomsetes saadustes sisalduvate ja nende pinnal esinevate pestitsiidide jääkide ametlikuks kontrollimiseks ning tunnistatakse kehtetuks direktiiv 79/700/EMÜ.

³ Taimekaitseeadus - RT I 2000, 29, 169.

vahaketast hiljem lihtsam kätte saada. Sulatusprotsessi tuleb korrata kuni vaha on puhas (näiteks meest ja muudest vaha sulatusjäädudest).

Vahapeegel - Vaha tootmiseks on töomesilastel vahanäärmed, mis eritavad vedelat vaha vahapeeglikestele, kus see hangub. Vahapeeglikesed on ebakorrapärase viisnurga kujulised paksema servaga kitiinist moodustised, mille all olevad vahanäärmed eritavad sinna peale näärmehõõret - vaha.

Veterinaarravim - Veterinaarravimid on ravimid, mida kasutatakse ainult loomadel. Euroopas on mesilaste korral reguleeritud järgmised farmakoloogilisi toimeaineid: amitraas, kumafoss, oksaalhape, flumetriin, tau-fluvalinaat⁴.

Ülesehitatud kärg - Vahast pesaehitis, milles on olnud nii munad, haue, mesi kui suur.

⁴ KOMISJONI MÄÄRUS (EL) nr 37/2010, 22. detsember 2009, mis käsitleb farmakoloogilisi toimeaineid ja nende liigitust loomsetes toiduainetes sisalduvate jääkide piirnormide järgi - ELT L 15, 20.1.2010, lk 1-72.

Lähteülesanne

Lähteülesanne on sõnastatud töö tellija, Maaeluministeeriumi, poolt. Uuringu eesmärk on välja töötada mesilasvahast proovide planeerimise ja võtmise meetodika. On olemas Euroopa Parlamendi ja nõukogu määrus (EL) 2018/848, mis käsitleb mahepõllumajanduslikku tootmist ja mahepõllumajanduslike toodete märgistamist ning millega tunnistatakse kehtetuks nõukogu määrus (EÜ) nr 834/2007 kohaldatakse alates 1. jaanuarist 2022. Selle määruse kohaldamisala hulka kuulub ka mesilasvaha. Selleks, et kontrollida mesilasvaha vastavust mahepõllumajanduse nõuetele, on vajalik võtta sellest proove ning analüüsida neid mahepõllumajanduses mittelubatud toodetele, milleks on eelkõige taimekaitsevahendid ja ravimijäägid.

Proovide võtmist peab planeerima arvestades riskide taset tootmises. Võimalike riskide määratlemiseks tuleb välja selgitada kirjanduse põhise analüüsina mee ja vaha vaheline ristsaaste võimalus ning ulatus taimekaitsevahendite ja ravimite osas. Näiteks vahast leitud positiivse taimekaitsevahendi proovi korral see, kas vahast taimekaitsevahendi jäägi leidmise korral saaks mett mahedana turustada või mitte ning seeläbi vähendada planeeritavat proovide arvu meest. Lisaks on oluline kirjanduse põhiselt välja selgitada riskikriteeriumid proovide võtmiseks, tulenevalt mesila asukohtadest- madala, keskmise ja kõrge riskitasemega asukohad, sõltuvalt võimalike saasteallikate iseloomust ja kaugusest.

Kuna Eestis ega rahvusvahelisel tasandil ei ole ühtset meetodikat mesilasvahast proovide võtmiseks, siis on vajalik see välja töötada. Samuti on mesilasvahast proovide võtmise planeerimiseks oluline määratleda saastumise riskid.

Uuringu tulemusena valminud meetodikast peab selguma:

- Riskid mesilasvaha saastumiseks, sh riskitasemed mesila asukohtade põhiselt ja saaste edasikandumise tõenäosus erinevate mesindussaaduste vahel.
- Tooraine vorm ja tootmisetapp, mille käigus on kõige õigem proov võtta, et saada kõige täpsemad tulemused;
- Algproovi kogus;
- Vajalik algproovide arv;
- Keskmise proovi moodustamise meetodika;
- Kasutatavad proovivõtuvahendid ning nende efektiivne puhastamine.

Töö ülevaade

Töö on koostatud kasutades erinevat teaduskirjandust, kus käsitletakse kas mesilasvaha proovivõttu või kus on uuritud mesilasvahas taimekaitsevahendite toimeaineid või ravimeid. Töös viidatud olulisemad teadusartiklid on avaldatud viimastel aastatel, et lähtuda kõige uuematest andmetest. Samuti on kasutatud erinevaid mesinduse käsiraamatuid, juhenddokumente, määrusi ja standardeid.

Töö koosneb järgnevatest peatükkidest:

1. Mesilasvaha: ülevaade mesilasvaha koostisest.
2. Saasteained mesilasvahas: ülevaade mesilasvaha saastumise riskidest taimekaitsevahendite toimeainetega. Kirjeldatakse erinevate taimekaitsevahendite jaotumisest mee ja vaha vahel sõltuvalt nende füüsikalise-keemilistest omadustest.
3. Proovivõtu planeerimine: kirjeldab kuidas selgitada välja proovivõtmise asukohti, proovivõtuaega ja valimi suurust ning erinevaid mesilasvaha proovi liike. Kirjeldab taimekaitsevahendite sattumise riske mesilasvahas sõltuvalt sellest, milline on korjeala.
4. Mesilasvaha proovivõtt, töötlemine ja hoiustamine: erinevate mesilasvaha proovi liikide võtmise protseduurid (sh vajalikud proovivõtuvahendid, proovi kogused, keskmistatud proovi moodustamine).

1. Mesilasvaha

Mesilasvaha on keerulise koostisega lihtlipiid, millest suurema osa moodustavad rasvhappe estrid, peamiselt müristüülpalmiit, süsivesinikud, vabad happed. Lisaks sisaldab mesilasvaha mitmesuguseid ühendeid, nt pigmendid, tserothape, lignotserothape, kõrgemad alkoholid (Zilmer et al., 1996). Mesilasvaha füüsikalise-keemilised omadused on toodud Tabelis 1.

Tabel 1. Mesilasvaha füüsikalise-keemilised omadused (Bogdanov, 2004).

Näitaja	Omadus või omaduse väärtus
Värvus	Kollane kuni kollakaspruun ⁵
Olemus	Peeneteraline, mittekristalne
Lõhn	Meesarnane
Konsistents	Ei tohiks lõikamisel olla kleepuv
Sulamistemperatuur	61-65 °C
Tihedus (15 °C)	0,950 – 0,965 g/cm ³
Murdumisnäitaja (75 °C)	1,440 – 1,445
Happearv	18 – 23 mg KOH/g
Estrite sisaldus	70 – 80 mg KOH/g
Seebistumisarv	87 – 104 mg KOH/g
Peroksiidi arv	Vähemalt 8 meq/kg
Parafiinid	Puuduvad

Vaha keemiline koostis varieerub sõltuvalt geograafilisest päritolust (sama piirkonna vahad on keemiliselt sarnasemad). Mesilasvaha on kollase kuni kollakaspruuni värvusega. Kasutamise käigus värvus muutub ja võib varieeruda helekollasest tumepruuni kuni mustani. Vaha kollased toonid pärinevad taruvaigust ja õietolmu värvidest. (Karise et al., 2016).

Mesilasvaha on vetthülgavate omadustega, suhteliselt vähelagunev, kuid tundlik kõrgetele temperatuuridele.

Euroopa Parlamendi ja nõukogu määrus (EL) 2018/848 käsitleb mahepõllumajanduslikku tootmist ja mahepõllumajanduslike toodete märgistamist ning selle määruse kohaldamisala hulka kuulub ka mesilasvaha. See tähendab, et kui mesilasvaha on pärit mahepõllumajandusest, ei tohi see sisaldada taimekaitsevahendite toimeaineid ja ravimijääke.

⁵ Autori märkus: Värske, mesilaste vahapeegilt erituv vaha on valget värvi. Värskest ehitatud kärgedest või kärjekaunistisest sulatatud vaha on peaaegu valge või kollakasvalge. Tarus vaha värvus muutub (näiteks kokkupuutel taruvaiguga muutub vaha kollaseks).

2. Saasteained mesilasvahas

2.1. Saasteainete esinemine mesilasvahas

Vaha on suhteliselt mittepolaarne materjal ning absorbeerib mitmeid, peamiselt lipofiilseid ehk rasvlahustuvaid aineid (näiteks mittepolaarsed taimekaitsevahendite toimeained) nii taru siseõhust kui ka vahaga otseselt kokku puutuvatest materjalidest nagu näiteks õietolm ja nektar. Lipofiilsed saasteained pärinevad kas keskkonnast (taimekaitsevahendid) või mesindusest (varrolestade ja kärjekoide tõrjeks kasutatavad kemikaalid). (Bogdanov, 2004) Enamik keemilisi ühendeid laguneb mesilasvahas väga aeglaselt, sest mesilasvaha on suhteliselt stabiilne (Murcia Morales et al., 2020). Samuti aitab aeglasemale lagunemisele kaasa see, et mesilasvahas on vee sisaldus <1%, mis madalam kui mee veesisaldus (15-20%). Kuna vaha ise laguneb aeglaselt ning lipofiilsed taimekaitsevahendid on suure biomagnifikatsioonivõimega, toimubki nende akumulatsioon mesilasvahas (Shimshoni et al., 2019).

Taimekaitsevahendid võivad sattuda kergedele mesilastelt, õietolmilt või nektarist. Tarus on kõik need maatriksid omavahel seotud ja võib toimuda taimekaitsevahendite toimeainete difusioon ühest maatriksist teise, näiteks võivad need sattuda mesilasvahast mee sisse või ka vastupidi. (Murcia Morales et al., 2020) Taimekaitsevahendite toimeainete jääkidest on mesilasvahast leitud kõige enam mesinike tegevuste läbi tarru viidavaid aineid. Enamasti on nendel juhtudel tegemist näiteks varroalesta tõrjevahenditega, mis sisaldavad sünteetilisi kemikaale. Tegemist on akaritsiididega ning enamik akaritsiide sisaldab lipofiilseid toimeaineid, nagu näiteks tau-fluvalinaat, amitraas, flumetriin ja kumafoss. (Karise et al., 2016) Seega on tegemist ainetega, mis kuhjuvadki eelkõige kõrge rasvasisaldusega mesilasvahasse.

Eestis on viidud läbi mesilasvaha uuring, kus enne talvitumist hukkunud mesilasperest pärit vahaproovist tuvastati nii kaasajal kasutatavaid taimekaitsevahendite toimeainete jääke kui ka juba aastakümneid keelatud toimeaineid ja nende laguprodukte: insektsiidi diklorodifenüültriikloroetaan (DDT) ja akaritsiid kloorbensilaat, umbrohutõrjevahendite toimeaine klopüraliid, putuka- ja lestatõrjevahend tau-fluvalinaat ja fungitsiid orto-fenüülfenool (OPP) (Karise et al., 2016).

Mesilasvaha korduval kasutamisel võivad taimekaitsevahendite toimeained vaha sisse akumulieruda ja kanduda sealt ka mee sisse. Uuringud on näidanud, et mesilasvaha kuumtöötlemine ei ole piisav, et selle käigus taimekaitsevahendite toimeainete jäägid seal laguneksid. (Bogdanov et al., 1998) Seda iseloomustab ka asjaolu, et uuringutes on leitud, et taaskasutatud kergedes on taimekaitsevahendite sisaldused suuremad kui uutest kergedes (Harriet et al., 2017).

Mesilasvahas on taimekaitsevahendite toimeainete esinemist varasemalt palju uuritud, eriti Euroopas. Uuringud Hispaanias on näidanud, et erinevates taru maatriksites leidub erinevaid taimekaitsevahendite toimeainete jääke, tuvastatud oli ka selliseid jääke, mis esines vaid vahas: propikonasool⁶, protiofos, tsüprodiniil. Enamasti ongi need taimekaitsevahendite

⁶ Käesoleva töö autor leiab, et jaotuskoefitsiendi põhjal võiks eeldada, et propikonasooli võiks leida ka mees.

toimeained, mis on suurema oktanool/vesi jaotuskoefitsiendiga⁷ ja lipofiilsemad ning seega akumuleeruavad mittepolaarsesse mesilasvahasse.(Murcia Morales et al., 2020)

Üks varasem Hispaanias läbiviidud uuring näitas, et mesilasvahas esines kõige sagedamini atsetamipriidi, diasinooni, imidaklopriidi ja tertbutüülasiini.(Herrera López et al., 2016) Saksamaal läbiviidud uuringus leiti enim mesilasvahast järgmisi toimeaineid: asoksüstrobiin, karbofuraan, klorobensilaat, tsüprodiniil, dimoksüstrobiin, fenbutatiin oksiid, fepüroksimaat, fluopüram, heksütiasoks, iprodioon, metolakloor, tebukonasool. Kõige levinumad olid erinevad fungitsiidid.(Shimshoni et al., 2019) Uuring näitas, et mesilasvahas leidub palju erinevaid taimekaitsevahendeid ning nende täpne esinemine sõltub ka sellest, milline on olnud mesilaste korjeala ehk milliseid kultuure seal on kasvatatud.

Belgias läbiviidud mesilasvaha uuringus analüüsiti ligi 300 erineva taimekaitsevahendi toimeainet ja tulemused näitasid, et ei esinenud mitte ühtegi sellist proovi, kus ei oleks olnud taimekaitsevahendite toimeaineid, lisaks oli palju MRL⁸ ületusi. Sarnaselt eelpoolmainitud uuringutele olid enamik tuvastatud toimeaineid lipofiilsed (fluvalinaat, kumafoss, bromopropülaat). Oluline on välja tuua, et leiti ka mitmeid toimeaineid, mis leidude ajal enam mitu aastat Belgias kasutusel ei olnud, näiteks mesilastele ülimürgist boskaliidi, lisaks ka DDT-d ja lindaani.(Ravoet et al., 2015) Seega on oluline, et mesilasvaha analüüsidel ei keskendutaks ainult nendele taimekaitsevahendite toimeainetele, mis on aktiivses kasutuses vaid ka neile, mis on kas keelustatud või pole pikalt asukoha riigis turul olnud. Belgiast on pärit ka üks uuemaid uuringuid, kus leiti erinevaid taimekaitsevahendite toimeaineid vahast ning taaskord leiti eelkõige lipofiilseid toimeaineid. Lisaks avastati, et kärjevahas olid sisaldused suuremad kui kaanetisvahas. Ning ka selles uurimngus leiti toimeainete jälgi peaaegu kõikides proovides. Kõige enam esines tau-fluvalinaati ja kumafossi, propargiiti, klorofenvinfossi, kloopürifossi ja bromoproülaati. Ka kuigi Belgias ei ole tau-fluvalinaat ja kumafoss turule lubatud, leiti neid väga suurtes kogustes.(El Agrebi et al., 2020)

Sarnaselt eelpoolmainitud Belgia uuringule, näitasid Itaalias läbiviidud mesilasvaha uuringud, et taimekaitsevahendite toimeainete jääke esines peaaegu kõikides analüüsitud proovides ning samuti leidis taimekaitsevahendite toimeaineid, mis Itaalias turule lubatud ei olnud. Kõige rohkem leidis proovides kumafossi, tau-fluvalinaati ja klorofenvinfossi, kuid suured sisaldused olid eelkõige seotud püretriinide ja pipeoniil butoksiidiga.(Perugini et al., 2018) Varasem sarnane uuring Prantsusmaal leidis samuti kõige rohkem proovides kumafossi ja tau-fluvalinaati, aga samuti ka endosulfaani. Lisaks leiti suhteliselt paljudes proovides tsüpermetriini, lindaani ja deltametriini.(Chauzat and Faucon, 2007) Põhja-Ameerikas läbiviidud ulatuslike uuringute käigus saadi sarnaseid tulemusi ning kokku leiti vahas 87 erinevat toimeainet, kõige enam oli fluvalinaati ja kumafossi, kuid palju oli ka klorotaloniili, kloopürifossi ja endosulfaani. 238 analüüsitud vahaproovist vaid ühes proovis ei sisaldunud uuritud toimeaineid. Taimekaitsevahendite jääke leiti ka kommertsiaalsetest vahaketastest.(Mullin et al., 2010)

⁷ Oktanool/vesi jaotuskoefitsient on määratletud kui keemilise aine kontsentratsiooni oktanoolifaasis ja selle kontsentratsiooni veefaasis suhe kahefaasilises süsteemis oktanool/vesi. Jaotuskoefitsiendi väärtus on suur vähepolaarsete ainete jaoks ja nii kasutatakse seda hüdrofoobsuse ehk lipofiilsuse hindamiseks. Mida väiksem on lahustumine vees, seda suurem on jaotuskoefitsiendi väärtus.

⁸ *Maximum Residue Level* ehk maksimaalne lubatud jäägi kogus toidus

Ühes värskemas Ameerika Ühendriikides läbiviidud uuringus, kus tarudest võeti proove mitmel järjestikul aastal, leiti 91-st analüüsitud taimekaitsevahendi toimeainest mesilasvahast 58. Kõige levinumad toimeained olid: asoksüstrobiin, boskaliid, karbendasiim, metolakloor, pendimetaliin, propikonasool, püraklostrobiin, tebukonasool, atrasiin, bentasoon, diuroon, tau-fluvalinaat, malatioon, kloorpürifoss, kumafoss ja dimetooat, millest kõige sagedamini esines atrasiini ja diurooni. Analüüs aastate lõikes näitas, et osad toimeained esinesid igal aastal, samas kui mõned olid vaid üksikutel aastatel. Samas uuringus näidati ka seda, et mida kauem oli kärg kasutuses, seda suuremad olid seal taimekaitsevahendite jääkide sisaldused. Uuringus tuvastati, et sama tootja juurest pärit erinevates mesilasvahades võivad olla erinevad taimekaitsevahendite toimeained ja erinevad võivad olla ka nende sisaldused. Selle üheks põhjuseks on kindlasti ka toimeainete lagunemine aja jooksul mesilasvahas. (Ostiguy et al., 2019)

Eelpoolmainitud kirjanduse põhjal saab järeldada, et kuna taimekaitsevahendite toimeained satuvad tarudesse õietolmu ja nektariga, siis võib erinevates tarudes taimekaitsevahendite sisaldus mesilasvahas mõnevõrra erineda. (Chauzat and Faucon, 2007; Tremolada et al., 2004). Sellest tulenevalt on suuremate mesilate korral vaja analüüsida mitmeid tarusid ühes asukohas.

Euroopa Liidu vaba turu tõttu tuleb taaskasutatava mesilasvaha kasutamisel vaha kontrollimisel tähelepanu pöörata ka sellistele taimekaitsevahendite toimeainetele, mida kohalikul turul müügile lubatud ei ole.

2.2. Taimekaitsevahendite toimeainete jaotumine mesilasvaha ja mee vahel

Mesilased kannavad põllult taimekaitsevahendite toimeained tarru, mistõttu on võimalik nii polaarse kui ka mittepolaarse taimekaitsevahendite toimeainete sattumine mee sisse ning sealt omakorda akumulereerumine aja jooksul ka mesilasvahas. Mesilasvahas on taimekaitsevahendite toimeainete sisaldused enamasti suuremad kui mees, eelkõige seetõttu, et toimub nende akumulereerumine mesilasvahas. Kuid taimekaitsevahendite toimeaineid leidub ka mees ning enamasti satuvad sinna just vesilahustuvad toimeained. (Tremolada et al., 2004)

Sõltuvalt taimekaitsevahendi toimeaine keemilistest omadustest liigub ta kas eelistatult vaha või mee sisse või on siis mõlemas korraga. Selline jaotumine võtab aega ning seega võib ka lipofiilseid toimeaineid leida teatud ajahetkedel ka mee seest. Samuti võib jaotumist mõjutada suur toimeaine sisaldus. Näiteks katsed lipofiilse kumafossiga on näidanud, et kui mesilasvahas oli selle sisaldus 1000 µg/kg, siis 26 nädala möödudes oli puhtas mees kumafossi sisaldus 430 µg/kg. (Kochansky et al., 2001) Seega on oluline, et kui vaha sisse on selle korduvkasutamise jooksul akumulereerunud suures sisalduses lipofiilseid toimeaineid, siis võivad need saastada ka mee. (Ravoet et al., 2015)

Enamasti on taimekaitsevahendite toimeaineid siiski liialt erineva polaarsusega, et mees ja mesilasvahas korraga esineda, kuid Saksamaal läbiviidud uuringus leiti näiteks karbendasiimi ja kumafossi korraga nii mee kui ka mesilasvaha proovidest. Lisaks sellele, et taimekaitsevahendite toimeainete jaotumine mee ja vaha vahel sõltub nende omadustest, mõjutavad seda ka aeg, aga ka näiteks temperatuur, sest toimeainete jaotumine mee ja

mesilasvaha vahel toimub alates temperatuuridel üle 65 kraadi kui mesilasvaha on pehme. (Shimshoni et al., 2019)

Olulisemad keemilised omadused, mis määravad toimeaine jaotumise mee ja mesilasvaha vahel, on nende vesilahustuvus, aururõhk ja lipofiilsus. Akumuleerumise hindamiseks on oluline toimeainete poolestusaeg, mis iseloomustab toimeainete lagunemist. Toimeainete jaotumist mee ja mesilasvaha vahel hinnatakse logaritmilise jaotuskoefitsendiga (logD). Toimeained, mille $\log D > 1$ ning poolestusaeg suurem kui 1 päev, akumuleeruvad pigem mesilasvahas kui mee sisse. Kui $\log D$ on aga negatiivne, siis sellised toimeained akumuleeruvad pigem mee sisse. Kui $\log D$ on 0 – 1, siis selliste ühendite korral esineb seda mõlemas maatriksis. LogD on funktsioon toimeaine molekulmassist ja oktaanool/vesi jaotuskoefitsiendist ehk mida suurem on oktaanool/vesi jaotuskoefitsient, seda suurem on tõenäosus, et toimeaine koguneb mesilasvahas. (Shimshoni et al., 2019)

Tabel 2. Mitmete taimekaitsevahendite toimeainete poolestusaeg mesilasvahas ja logD väärtused. (Shimshoni et al., 2019)

Nr	Taimekaitsevahendi toimeaine	Poolestusaeg ($t_{1/2}$)	logD
1	Alakloor	6	2,36
2	Atrasiin	1,2	2,08
3	Atseetamipriid	3,6	-0,75
4	Boskaliid	16	1,89
5	Fenbutatiin oksiid	32,1	1,21
6	Imidaklopriid	4,1	-1,04
7	Karbendasiim	1,3	0,78
8	Klorantraniliprool	5,9	1,32
9	Klorpüriifoss	8,8	2,75
10	Klotianidiin	6,9	-1,15
11	Metkonasool	6,4	2,11
12	Metolakloor	5,0	2,28
13	Tiaklopriid	2,3	-0,64
14	Tiometoksaam	5,8	-2,06

Tabeli põhjal näiteks neonikotinoiidid (3,10,6,13,14) kogunevad eelkõige mee sisse. Samas herbitsiidid (1,2,12), insektitsiidid (8,9) ja fungitsiidid (4,7,11) kogunevad pigem mesilasvahas.

3. Proovivõtu planeerimine

3.1. Kärjepõhi ja ülesehitatud kärj

Käesoleva töö fookuses on mesilas kasutatav mesilasvaha. Taimekaitsevahendite toimeainete uurimise seisukohalt on olulised selle alljärgnevad vormid:

- kärjepõhi;
- esmase sulatuse läbinud vahaketas ehk toorvaha;
- ülesehitatud kärj.

Kasutamata kärjepõhi ning vahaketas on mesinikul tavaliselt laos ning tegemist on toodetega, mis ei ole veel uue toodetava meega kokku puutunud. Kontroll on vajalik enne vaha kasutusse võtmist mesilas, et hinnata, kas vahas on taimekaitsevahendite toimeainete jääke.

Ülesehitatud kärjest on vajalik eelnev proovivõtu planeerimine. Nimelt peab kärjest võetud proov iseloomustama teatud hulga tarude mesilasvaha koostist. Juhul, kui proov võetakse tarust korjeperioodil, siis:

- võib see häirida mesilaspere;
- ei iseloomusta proov tervet suvist korjeperioodi (erinevatel kultuuridel erineval ajal kasutatavaid taimekaitsevahendeid).

Eesti taru raami kärjepõhi kaalub umbes 70 g. Kui mesilased selle üles ehitavad, kaalub see umbes 110 g. Ühe kärjepõhja ülesehitusega on mesilased tootnud vaha umbes 40 g, lisaks meeraamide kaanetamiseks toodetud vaha. Vahatoodang sõltub kärjepõhjade arvust, mida suvel tarusse antakse, ja hooaja meetoodangust – kui palju meekärgi kinni kaanetatakse. (Taal and Taal, 2018)

Mesilasvahas kogunenud taimekaitsevahendite toimeained on stabiilsed ja pigem akumulatuursed iseloomuga, mistõttu säilivad need tarus üldjuhul üle terve suve ning proovide võtmine ülesehitatud kärjest tuleks läbi viia sügisel, perede koondamise ajal, tarust võetud ülesehitatud kärgedest. Ülesehitatud kärgede vaha on mesilaste poolt kõige rohkem kasutatud ning neid kontrollides saab hinnata, milline oli mee kokkupuude erinevate taimekaitsevahenditega korjeperioodi jooksul.

Proovivõtmise saab läbi viia siis, kui pesaraamid on juba tarust eemaldatud. Selline teguviis ei kahjusta mesilasi. Proovid tuleks võtta koheselt, kui pesaraam on tarust eemaldatud.

3.2. Vabalt tekkinud kärj

Tarus võib tekkida ka iseeneslikke kärgesid, mille mesilased on ehitanud sõltumata mesiniku tegevusest ehk nende ehitamiseks ei ole mesilased kasutanud mesiniku poolt ette antud kärjepõhja. Sellised vahakogumid võivad tekkida näiteks taru nurkades. Selliseid proove analüüsides on võimalik saada infot käesoleva aasta korjeperioodi mesilasvaha kohta ehk selles ei esine taaskasutatud vaha algseid saasteaineid, mis võivad olla varasemas kärjepõhjas. (Svečnjak et al., 2019)

Sellise kärjevaha proovi kogumisel on oluline, et mesilasi ei oleks ravitud eelnevalt veterinaarravimitega. Enne analüüsi ei tohi olla kärjevahal mistahes segavaid materjale (õietolm, nektar/mesi vms).

3.3. Proovivõtu asukohta väljaselgitamine ülesehitatud kärje korral

Erinevate uuringute põhjal saab väita, et mesilasvahas leidub rohkem taimekaitsevahendeid kui tarud asuvad põllumajandustootjate, suurte maanteed või raudteede läheduses, kus kasutatakse taimekaitsevahendeid. Nende haju- ja punktallikate mõju mesilasvaha saastusele on suurema riskiga, kui need asuvad tarudele lähemal kui 3 km (Bogdanov, 2004).

Mahepõllumajandusliku mesinduse nõuded on esitatud mahepõllumajanduse seaduses ja põllumajandusministri 20.02.2009 määruses nr 25. Mesilaste korjeraadiuses ei tohi üldjuhul olla tavapõlde, mida pritsitakse taimekaitsevahenditega (eriti rapsi- ja rüpsipõllud). Eriti vaadatakse, milline on korjeala 1,5 km raadiuses, teatavaid mööndusi on võimalik teha, kui tavapõllud jäävad 3 km raadiuse äärealadele ja tarude läheduses on nektari- ja õietolmuallikaid piisavalt. Kuigi nõuetes saasteallikaid (nt jäätmekäitluskohti jm) eraldi ei nimetata, tuleb jälgida, et neid korjemaal ei oleks. PMA hindab iga üksikjuhtumit eraldi, arvestades konkreetse korjeala olukorda, sh ka seda, kas mesilastele on 3 km raadiuses piisavalt nõuetekohaseid nektari- ja õietolmuallikaid. Selline vahetegemine on üsna põhjendatud, sest mesilaste efektiivne korjeraadius jääb 1,5 km piirimaile. Praktikas võibki mesilagrupperi ümbritseva korjema jagada kaheks osaks: kuni 1,5 km raadiusega ring, pindalaga 700 ha ja sõõr raadiustega 1,5–3 km, pindalaga 2100 ha. (Taal and Taal, 2018)

Mesilaste lennuraadiuse osas valitseb arvamuste rohkus. Kui mahenõuetega on seatud piirangud alale raadiusega 3 km, siis teadlased on hinnanud mesilaste korjemaaks mesilast ümbritseva kuni 2 km raadiusega maa-ala (1256 ha), millel kasvavad meetaimed. 2 km on mainitud ka taimekaitsetöödega seonduvates juhistes ja määrustes. Eelnev hinnang tugineb bioloogiale ja matemaatikale. Efektiveks korjeraadiuseks on kirjanduses loetud ka 1,2 km. (Taal and Taal, 2018) Kuid on ka juhiseid, mis ütlevad, et töömesilase maksimaalseks lennukauguseks võib olla kuni 6 km (Naudi et al., 2017; Visscher and Seeley, 1982). See, kui kaugemale mesilane lendab, sõltub ka sellest, kui palju on tema taru läheduses taimi, millelt nektarit korjata. Ühes esimeses teaduslikus uuringus, mis on tehtud mesilaste lennukauguse uurimiseks, leiti, et kui taimed on lähedal, lendavad mesilased umbes 4,8 km kaugusele (3 miili) ja kui midagi läheduses polnud, lendasid mesilased kuni 14 km (8,5 miili) kaugusele (Eckert, 1933). Mida kaugemal on taimed, seda kaugemale peab mesilane lendama. Näiteks on leitud, et kui mesilased korjasid nektarit kanarbikult, mis asus kaugemal, oli mesilaste keskmine lennukaugus 5,5 km ja tervelt 10% mesilastest lendas 9,5 km kaugusele (Beekman and Ratnieks, 2000). Oluline on ka see, et kui mesilane on leidnud kaugemalt korjeala, siis jätkab ta sinna lendamist ka siis, kui midagi lähemale tekib (Eckert, 1933).

Seega tuleks mesilasvaha kontrolli korral proovide võtmisel hinnata tarude ümbrust ka kaugemal kui 3 km raadiuses ja võttes arvesse, et erinevates uuringutes on leitud, et mesilase sattumine ka kuni 6 km kaugusele on tavapärane, on soovituslik mahetootmise mesilaste korral hinnata ümbrust 6 km raadiuses.

Tabelis 3 on eelnevat arvesse võttes toodud soovituslikud kolm erinevat riskitaset taimekaitsevahendite toimeainete sisalduse esinemisel, millega võiks arvestada mahevaha kontrollimiseks proovide võtmisel.

Tabel 3. Soovituslikud riskitasemed mahetootmise mesilate korral.

Riskitase	Mesila asukoht
Madal	1,5 - 6 km raadiuses on vaid metsad, rabad, mahepõllud, linnad, kodumajapidamised, suvilarajoonid
	3 - 6 km raadiuses on erinevat liike (sh mittemahe) väiksemaid põlde, taristu
Keskmine	1,5 km raadiuses on linnad, kodumajapidamised, suvilarajoonid
	1,5 - 3 km raadiuses on erinevat liike (sh mittemahe) väiksemaid põlde, taristu
Kõrge	3 - 6 km raadiuses on suured monokultuursed mittemahedad põllumassiivid

Kui vahast leitakse taimekaitsevahendi toimeaineid, siis on tõenäoline, et neid leidub ka mees ning seega ei ole võimalik, et taimekaitsevahendite toimeaineid sisaldavat vaha võiks kasutada maheda mee tootmisel.

3.4. Proovivõtu valim

Proovivõtu valim on oluline aspekt proovide võtmisel, eriti kui ühel tootjal on palju tarusid erinevates asukohtades. Kui mesila kõik tarud on ühes geograafilises asukohas, moodustab see ühe partii. Kui aga mesila tarud on mitmes asukohas, tuleb kõiki kohti käsitleda eraldi. Sama tootja juurest erinevatest kohtadest võetud proovid, tuleb eraldi märgistada ja käsitleda neid erinevate proovidenäidete.

Igast tarude asukohast tuleb võtta vahaproovid. Milline on valimi suurus ehk kui palju tarusid ühes asukohas kontrollida, sõltub sellest, kui palju on asukohas tarusid. Proovi võtmise tarud valitakse juhuslikkuse alusel.

Hetkel puudub rahvusvaheliselt heakskiidetud tava selle kohta, kui palju proove peaks võtma, et saada esinduslikku ülevaadet mesilasvahas taimekaitsevahendite toimeainete kohta. Küll aga on mitmed mee ja mesilasvaha standardid, kus on antud juhised, kui palju peaks mee või mesilasvaha proove võtma, et kontrollida nende vastavust eeskirjadele ("Indian Standard. Beeswax, crude and refined. 3rd revision," 1996; "IS 1504 (1996): Beeswax, Crude and Refined," 1996). Tabelis 4 on esitatud standarditest lähtuv soovituslik minimaalne proovide arv.

Tabel 4. Partiiis olevate analüüsitavate tarude arv

Tarude arv ühes asukohas (N)	Minimaalne võetavate proovide arv (n)
1-2	1
3-25	3
26-100	4
101-500	5

4. Mesilasvaha proovivõtt, töötlemine ja hoiustamine

4.1. Proovivõtja

Proovivõtja peab omama üldisi teadmisi proovivõtust ja mesindust. Proovivõtja peaks soovitatavalt olema tarude omanik ja võtma proove kasutades oma proovivõtuvahendeid. Proovivõtja peab välistama proovivõtmise ajal proovi saastumise ja riknemise ning tagama esindusproovi võtmise, käsitlemise, säilitamise, transportimise ja laboratooriumile üleandmise.

Proovivõtt mesilasvahast peab olema läbiviidud järelevalveametniku juuresolekul.

4.2. Proovivõtt mesilasvahast

Proovivõttu saab mesilasvahast teha kolme liiki proovist:

- kärjepõhi;
- esmase sulatuse läbinud vahaketas, toorvaha;
- ülesehitatud karg.

Juhul, kui meetootja juures on erinevaid mesilasvaha liike või erinevat päritolu mesilasvaha, mida ta meetootmise juures kasutab, tuleb analüüsida neid kõiki erinevate proovidenäidete.

4.2.1. Proovivõtuvahendid

1. Vaha eemaldamise tööriist (näiteks roostevabast terasest kaabits, spaatel vms).
 - Tegemist võib olla ka ühekordse vahendiga nagu plastikust lusikas vms.
2. Ühekordsed kindad (näiteks nitril- või latekskindad).
3. Puhtad anumad proovide jaoks:
 - plastikust (polüpropüleen) kotid või karbid;
 - klaasist anumad, purgid;
 - roostavast terasest anumad;
 - pakkimise paber, paberist ümbrikud või ka nn toidukile, foolium (sobib säilitamiseks suuremate vahaketaste või kargede korral).
4. Etanool (96%) proovivõtuvahendite desinfitseerimiseks vahetult enne proovivõttu.

4.2.1. Proovivõtuvahendite ja anumate puhastamine

Mahemesinduses on levinumad meetodid tarude ja tarvikute puhastamisel lahtine tuli, aur ja seebikivi (naatriumhüdroksiid) (Taal and Taal, 2018). Desinfitseerimiseks sobib 2% lahus, pesemiseks aga kangem, 5–8%. Seebikiviga pesemisel tuleb tarvikud koheselt veega loputada (juba kuivanud seebikivi on raske maha pesta). Seebikivi on söövitava toimega ja raamide pesemisel tuleb kindlasti kanda kummikindaid. (Riis, 2020) Soovituslik on lisaks kasutada ka kaitseprille ja vajadusel maski.

Rohkem mahemesinduses mesindusinventari töötlemiseks lubatud tooteid on toodud määruses (EMÜ) nr 2092/91 (*Nõukogu määrus (EMÜ) nr 2092/91, 24. juuni 1991, põllumajandustoodete mahepõllundustootmise ning põllumajandustoodete ja toiduainete puhul sellele viitavate mürkide kohta*, n.d.).

Samuti on võimalik ka proovivõtuvahendite mehaaniline puhastamine. Seejärel tuleb tarvikud desinfitseerida.

4.2.2. Üldised nõuded proovivõtule

Proovide võtmisel, ettevalmistamisel ja käitlemisel järgitakse järgmiseid ettevaatusabinõusid ja juhiseid:

- Proovid võetakse puhastes tingimustes ning välditakse niisket õhku, tolmu või tahma, võimalusel välditakse otsest päikesevalgust.
- Proovivõtuvahendid peavad olema puhtad ja kuivad.
- Proovid asetatakse puhastesse ja kuivadesse sobivast materjalist anumatesse (4.2.1). Anumad peavad olema sellise suurusega, et proov täidab peaaegu tervenisti anuma.
- Kõik anumad suletakse võimalikult tihedalt pärast proovivõttu ning märgistatakse üheselt identifitseeritavalt.

4.2.3. Proovivõtt kärjepõhjadest

Kärjepõhju saab enamasti kas mesindusega tegelevatest ettevõtetest või mesinikelt.

- Kärjepõhjade korral analüüsitakse kõiki kasutatavaid erinevaid kärjepõhjade partiisid eraldiseisvate proovidenäidete.
- Kärjepõhjade analüüsimiseks kasutatakse kas kogu lehte või osa sellest, sõltuvalt sellest, kui suur on kärjepõhi. Proovi minimaalne kogus on 20 grammi*.

Märkus: Kui mesinik soovib, siis võetakse kolm paralleelproovi. Need märgistatakse selliselt, et üks jäetakse taru/toote omanikule, üks võetakse analüüsimiseks ja üks jäetakse kontrollprooviks. Kontrollproov märgistatakse mõlema osapoole poolt ning hoiustatakse nõuetekohaselt kokkulepitud kohas.

4.2.4. Proovivõtt vahaketastest (toorvahast)

Vahaproovi võtmiseks kasutatakse eelnevalt puhastatud metallist spaatlit või spiraali.

Vahakettast võetakse läbivalt kolmest kuni neljast erinevast kohast ca 5-10 grammi* suurused alamproovid ja asetatakse need ühte anumasse keskmistatud prooviks.

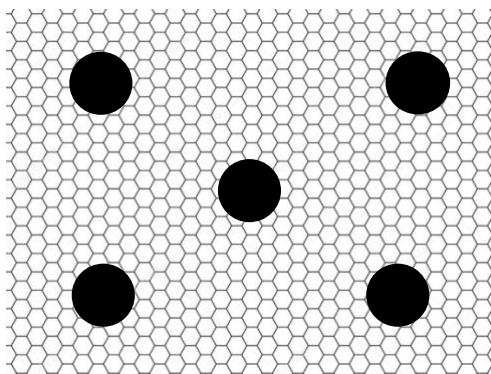
4.2.5. Proovivõtt ülesehitatud kärjest

Proov võetakse sügisel perede koondamise ajal tarust võetud ülesehitatud kärgedest.

Enne iga kärjevaha proovivõttu uuest kärjest pannakse kätte puhtad ühekordsed kindad vältimaks proovide vahel ristsaastumist. Võimalusel valitakse selline osa kärjest, kus on võimalikult vähe suira, hauet, nektarit või õietolmu. Proov võetakse järgmiselt:

1. Proovivõtuvahendid desinfitseeritakse etanooliga (96%) vahetult enne proovivõttu.
2. Kasutades puhast töövahendit (kaabits, spaatel vms) kraabitakse kärjest kärjevaha. Kärjest võetakse koondproov juhumeetodil (vt joonis 1), igast asukohast võetakse proov suurusega ca 8 cm x 8 cm ja asetatakse need samasse proovi anumasse.
 - Väiksema raami korral võib alamproovid võtta ka sama taru mitmest raamist.

* Kui vahast planeeritakse mitmeid erinevaid analüüse või proove saadetakse erinevatesse laboritesse, tuleb täpne vaha kogus laboritega kooskõlastada.



Joonis 1. Soovituslikud proovi võtmise kohad kärjel (neli nurkadest, üks keskelt).

Proov transporditakse jahutatuna umbes 4 °C juures.

Kui proov on jõudnud laborisse, säilitatakse seda sügavkülmas (-15 °C kuni -20 °C) juures kuni analüüsimiseni. ("CAC/GL 40-1993. Guidelines on good laboratory practice in pesticide residue analysis.," 1993; OECD, 2007)

4.2.6. Proovivõtuprotokoll

Proovivõtuprotokoll koostatakse proovivõtukohal. Proovivõtuprotokolli üks eksemplar edastatakse analüüsi tegevale laborile, teine proovivõtjale ning kolmas mesila pidajale või tema esindajale. Keskmistatud proovi korral või kui tegemist on samas asukohas olevate tarudega, võib vormistada ühise proovivõtuprotokollil.

Proovivõtuprotokoll peab sisaldama vähemalt järgmist:

- Proovivõtu asukoht, tingimused;
- Mesilasvaha proovi täpsustus (kärjepõhi, vahaketas, ülesehitatud kärj)
- Proovivõtu kuupäev;
- Proovi või proovivõtuanuma number;
- Proovivõtu kirjeldus – vahendid, kuidas proov võeti, keskmistamine jne;
- Ligikaudne proovi kogus;
- Säilitamisviisi kirjeldus – millisel temperatuuril hoiustatakse enne analüüsi (sh transpordil);
- Proovivõtja ees- ja perekonnanimi, kontaktandmed, allkiri;
- Mesila pidaja või tema esindaja või teiste proovivõtu juurde kaasatud isikute ees- ja perekonnanimi, ametikoht ja allkiri proovivõtul viibimise kohta;
- Proovi katselaborisse andmise kuupäev;
- Vajadusel info muude asjaolude või tingimuste kohta, mis võivad mõjutada proovi.

Iga prooviga peab kaasas olema protokolli allkirjastatud koopia ning teist koopiat peab säilitama proovivõtja. Kui proovivõtuprotokollid koostatakse elektroonilisel kujul, tuleb need edastada samadele saatjatele ning säilitada sarnane kontrollitav kontrolljälg.⁹

⁹ KOMISJONI DIREKTIIV 2002/63/EÜ, 11. juuli 2002, millega kehtestatakse ühenduse proovivõtumeetodid taimsetes ja loomsetes saadustes sisalduvate ja nende pinnal esinevate pestitsiidide jääkide ametlikuks kontrollimiseks ning tunnistatakse kehtetuks direktiiv 79/700/EMÜ.

4.3. Mesilasvaha proovi eeltöötlus

Selleks, et mesilasvahast saaks laboris analüüsitav proov¹⁰, see sulatatakse (Svečnjak et al., 2019).

1. Mesilasvaha proov asetatakse klaasist (kuumakindel) või roostevabast terasest nõusse.
2. Anum asetatakse veevanni, ahju või kuumutuskappi.
3. Kasutades termomeetrit mõõdetakse vaha temperatuur. Vaha kuumutatakse 75 ± 10 °C juures kuni proov on täielikult sulanud.
4. Seejärel eemaldatakse füüsilised osakesed vahast (kas mehhaaniliselt eemaldades või läbi marli/sõela filtreerides) ning segatakse.
5. Jäetakse jahtuma toatemperatuurile.
6. Seejärel on proov analüüsimiseks valmis või säilitatakse sügavkülmas (-15 °C kuni -20 °C) kuni analüüsimiseni. ("CAC/GL 40-1993. Guidelines on good laboratory practice in pesticide residue analysis.," 1993)

4.4. Mesilasvaha proovide säilitamine

- Mesilasvaha säilitatakse sobivas anumast (4.2.1).
- Enne laborisse saatmist säilitatakse mesilasvaha proove pimedas ~ 4 °C juures (sh transpordil).
- Laboris säilitatakse mesilasvaha proove sügavkülmas (-15 °C kuni -20 °C). Proove võib selliselt hoida 30 päeva. Selleks, et neid kauem hoida, tuleb läbi viia pestitsiidide stabiilsuse kontroll.(OECD, 2007)

¹⁰ Mesiniku juures toodud proovist analüüsimiseks ettevalmistatud materjal.

Kokkuvõte

Selleks, et kontrollida mahetootmises kasutatava mesilasvaha vastavust mahepõllumajanduse nõuetele, on vajalik võtta sellest proove ning analüüsida neis mahepõllumajanduses mittelubatud tooteid, milleks on eelkõige taimekaitsevahendite toimeainete- ja ravimijäägid.

Nii Eestis kui ka rahvusvahelisel tasandil ei ole ühtset metoodikat mesilasvahast proovide võtmiseks, mistõttu on vajalik selle väljatöötamine. Arvesse tuleb võtta erinevaid riske mesilasvaha saastumiseks mahepõllumajanduses.

Käesolevas töös on antud teaduskirjanduse põhjalik ülevaade sellest, et erinevate saasteainete, eelkõige aga taimekaitsevahendite toimeainete jääkide esinemine mesilasvahas on väga sage. Eelkõige akumulieruvad mesilasvahas lipofiilsed toimeained ning kõikides uuringutes esines vaid üksikuid proove, mis olid saasteainetest vabad. Samuti on oluline see, et Euroopa Liidus tuleb vaba turu tõttu taaskasutatava mesilasvaha kasutamisel analüüsil tähelepanu pöörata ka sellistele taimekaitsevahendite toimeainetele, mida kohalikul turul müügile lubatud ei ole. Uuringud näitavad, et vaha taimekaitsevahendite toimeainete sisalduse põhjal ei saa hinnata seda, millised on taimekaitsevahendite toimeainete leiud mees.

Töös on kirjeldatud nii proovivõtu planeerimine võttes arvesse tarude arvu ning asukohtasid. Kuna mahemesinduse hea tava eeldab 1,5 km laiust maheraadiust, siis võivad töomesilased lennata kaugemale ning sellest tulenevalt on kirjeldatud erineva riskitasemega mesilad mahetootmises, vastavalt sellele, mis on mesila 1,5-6 km raadiuses.

Mesilasvahast proovivõtt on kirjeldatud järgnevatele mesilasvahadele: kärjepõhjale, esmase sulatuse läbinud vahakettale ehk toorvahale ning ülesehitatud kärjele. Ülesehitatud kärje korral tuleks proovide võtmine läbi viia sügisel, perede koondamise ajal, tarust võetud ülesehitatud kärgedes.

Lisatud on ka juhised mesilasvaha proovivõtu protokollimiseks, proovide pakendamiseks ja hoiustamiseks.

Kasutatud kirjandus

- Beekman, M., Ratnieks, F.L.W., 2000. Long-range foraging by the honey-bee, *Apis mellifera* L. *Functional Ecology* 14, 490–496. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.2000.00443.x>
- Beeswax - specification, EA 1203:2005, 2005.
- Bogdanov, S., 2004. Quality and Standards of Pollen and Beeswax. *APIACTA* 38, 334–341.
- Bogdanov, S., Kilchenmann, V., Imdorf, A., 1998. Acaricide residues in some bee products. *Journal of Apicultural Research* 37, 57–67. <https://doi.org/10.1080/00218839.1998.11100956>
- CAC/GL 40-1993. Guidelines on good laboratory practice in pesticide residue analysis., 1993.
- Chauzat, M.-P., Faucon, J.-P., 2007. Pesticide residues in beeswax samples collected from honey bee colonies (*Apis mellifera* L.) in France. *Pest Management Science* 63, 1100–1106. <https://doi.org/10.1002/ps.1451>
- Eckert, J., 1933. The flight range of the honeybee. *Journal of Agricultural Research* 47, 257–286.
- El Agrebi, N., Traynor, K., Wilmart, O., Tosi, S., Leinartz, L., Danneels, E., de Graaf, D.C., Saegerman, C., 2020. Pesticide and veterinary drug residues in Belgian beeswax: Occurrence, toxicity, and risk to honey bees. *Science of The Total Environment* 745, 141036. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141036>
- Harriet, J., Campá, J.P., Grajales, M., Lhéritier, C., Gómez Pajuelo, A., Mendoza-Spina, Y., Carrasco-Letelier, L., 2017. Agricultural pesticides and veterinary substances in Uruguayan beeswax. *Chemosphere* 177, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.131>
- Herrera López, S., Lozano, A., Sosa, A., Hernando, M.D., Fernández-Alba, A.R., 2016. Screening of pesticide residues in honeybee wax comb by LC-ESI-MS/MS. A pilot study. *Chemosphere* 163, 44–53. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.008>
- Indian Standard. Beeswax, crude and refined. 3rd revision., 1996.
- IS 1504 (1996): Beeswax, Crude and Refined, 1996. 12.
- Karise, R., Kozlov, S., Riis, M., Kiiker, T., Sarap, A., Taal, T., Taal, A., 2016. Mesilasvaha ja kärjemajandus. Eesti Mesinike Liit.
- Kochansky, J., Wilzer, K., Feldlaufer, M., 2001. Comparison of the transfer of coumaphos from beeswax into syrup and honey. *Apidologie* 32, 119–125. <https://doi.org/10.1051/apido:2001117>
- Mullin, C.A., Frazier, M., Frazier, J.L., Ashcraft, S., Simonds, R., vanEngelsdorp, D., Pettis, J.S., 2010. High Levels of Miticides and Agrochemicals in North American Apiaries: Implications for Honey Bee Health. *PLoS ONE* 5, e9754. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009754>
- Murcia Morales, M., Gómez Ramos, M.J., Parrilla Vázquez, P., Díaz Galiano, F.J., García Valverde, M., Gámiz López, V., Manuel Flores, J., Fernández-Alba, A.R., 2020. Distribution of chemical residues in the beehive compartments and their transfer to the honeybee brood. *Science of The Total Environment* 710, 136288. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136288>
- Naudi, S., Raimets, R., Bontšutšnaja, A., Karise, R., 2017. Mesinduse roll ning olulisus mahemesinduse perspektiivis., in: Teaduselt Mahepõllumajandusele. SA Eesti Maaülikooli Mahekeskus.

- Nõukogu määrus (EMÜ) nr 2092/91, 24. juuni 1991, põllumajandustoodete mahepõllumajandustootmise ning põllumajandustoodete ja toiduainete puhul sellele viitavate määrgiste kohta, n.d.
- OECD, 2007. Test No 506: Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities.
- Ostiguy, N., Drummond, F.A., Aronstein, K., Eitzer, B., Ellis, J.D., Spivak, M., Sheppard, W.S., 2019. Honey Bee Exposure to Pesticides: A Four-Year Nationwide Study. *Insects* 10, 13. <https://doi.org/10.3390/insects10010013>
- Perugini, M., Tulini, S.M.R., Zezza, D., Fenucci, S., Conte, A., Amorena, M., 2018. Occurrence of agrochemical residues in beeswax samples collected in Italy during 2013–2015. *Science of The Total Environment* 625, 470–476. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.321>
- Ravoet, J., Reybroeck, W., de Graaf, D.C., 2015. Pesticides for Apicultural and/or Agricultural Application Found in Belgian Honey Bee Wax Combs. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 94, 543–548. <https://doi.org/10.1007/s00128-015-1511-y>
- Riis, J., 2014. Mesinduse oskussõnastik. Eesti Mesinike Liit.
- Riis, M., 2020. Tänapäeva mesindus. Käsiraamat. Eesti Mesinike Liit.
- Shimshoni, J.A., Sperling, R., Massarwa, M., Chen, Y., Bommuraj, V., Borisover, M., Barel, S., 2019. Pesticide distribution and depletion kinetic determination in honey and beeswax: Model for pesticide occurrence and distribution in beehive products. *PLOS ONE* 14, e0212631. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212631>
- Sildnik, A., 2016. Abiks alustavale mesinikule. Eesti Mesinike Liit.
- Svečnjak, L., Chesson, L.A., Gallina, A., Maia, M., Martinello, M., Mutinelli, F., Muz, M.N., Nunes, F.M., Saucy, F., Tipple, B.J., Wallner, K., Waś, E., Waters, T.A., 2019. Standard methods for *Apis mellifera* beeswax research. *Journal of Apicultural Research* 58, 1–108. <https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1571556>
- Taal, A., Taal, T., 2018. Mahemesindus. Eesti Mahepõllumajanduse Sihtasutus.
- Tremolada, P., Bernardinelli, I., Colombo, M., Spreafico, M., Vighi, M., 2004. Coumaphos Distribution in the Hive Ecosystem: Case Study for Modeling Applications. *Ecotoxicology* 13, 589–601. <https://doi.org/10.1023/B:ECTX.0000037193.28684.05>
- Visscher, P.K., Seeley, T.D., 1982. Foraging Strategy of Honeybee Colonies in a Temperate Deciduous Forest. *Ecology* 63, 1790. <https://doi.org/10.2307/1940121>
- Zilmer, M., Karelson, E., Vihalemm, T., 1996. Meditsiiniline biokeemia I. Biomolekulid: biokeemilised ja meditsiinilised aspektid.