

# **Poročilo o raziskovalnem delu v čebelnjaku HOFER za leto 2014**



**Lukovica, december 2014**



**Naslov:** Poročilo o raziskovalnem delu v čebelnjaku HOFER za leto 2014

**Naročnik:** HOFER trgovina d.o.o.

Kranjska cesta 1

1225 Lukovica

**Oznaka pogodbe:** POGODBA med HOFER trgovino D.O.O. IN ČZS iz dne 01.04.2014

**Izvajalec:** Čebelarska zveza Slovenije

Brdo pri Lukovici 8

1225 Lukovica

**Podizvajalci:** ERICo d.o.o., Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in varno hrano.

**Vodja strokovnega dela:** Nataša Lilek (ČZS)

**Skrbnica pogodbe:** Nataša Lilek (ČZS)

**V projektu so sodelovali:** Boštjan Noč (ČZS)

Adriana Pereyra Gonzales (MEDEX)

Janko Božič (BF)

Andreja Kandolf Borovšak (ČZS)

Tomaž Samec (ČZS)

Blaž Podrižnik

Maja Lončar (ČZS)

Zlatica Kovačević (ČZS)

**Avtorji poročila:** Nataša Lilek, Boštjan Noč

Rezultati so nastali v letu 2014 v okviru trajnostnega projekta - Za medeno prihodnost podjetja HOFER trgovine d.o.o.



**Lukovica, 31. 12. 2014**

**Boštjan Noč, predsednik ČZS**

**Nataša Lilek, univ.dipl.ing.živ.tehnol.**

## **KAZALO VSEBINE**

1 UVOD .....	6
1.1 CILJ RAZISKAVE.....	6
2 PREGLED OBJAV .....	7
2.1 Nastanek in pomen cvetnega prahu .....	7
2.2 Pomen cvetnega prahu za čebeljo družino .....	7
2.3 Cvetni prah glede na način pridobivanja.....	8
2.3.1 Osmukanec .....	9
2.3.2 Izkopanec.....	9
2.4 Sestava cvetnega prahu.....	10
2.4.1 Vsebnost beljakovin in aminokislin .....	11
2.4.2 Vsebnost vode .....	14
2.4.3 Vsebnost maščob .....	15
2.4.4 Vsebnost mineralnih snovi .....	15
2.4.5 Vsebnost ogljikovih hidratov .....	16
2.5 Pregled možnih onesnaževalcev cvetnega prahu .....	16
2.5.1 FIZIKALNO ONESNAŽENJE.....	16
2.5.2 KEMIJSKO ONESNAŽENJE – vpliv zunanjega okolja.....	16
2.5.3 KEMIJSKO ONESNAŽENJE – vpliv čebelarstva.....	19
2.5.4 MIKROBIOLOŠKO ONESNAŽENJE .....	19
3 MATERIAL IN METODE.....	20
3.1 Določanje vsebnosti beljakovin v cvetnem prahu .....	20
3.2 Določanje vsebnosti maščob v cvetnem prahu.....	21
3.3 Določanje vsebnosti vode v cvetnem prahu.....	21
3.4 Določanje vsebnosti pepela v cvetnem prahu .....	21
3.5 Določanje vsebnosti ogljikovih hidratov v cvetnem prahu .....	21
3.6 Določanje energijske vrednosti .....	21
3.7 Določanje ostankov vsebnosti FFS v cvetnem prahu.....	21
3.8 Mikroskopska identifikacija cvetnega prahu .....	21
3.9 Določanje težkih kovin v cvetnem prahu .....	21
3.10 Določanje policikličnih aromatskih ogljikovodikov (PAH) .....	22



3.11 Določanje polikloriranih bifenilov (PCB).....	22
3.12 Določanje aminokislinske sestave cvetnega prahu (tirozin-Tyr in triptofan-Trp).....	22
3.13 Statistična analiza .....	23
4 REZULTATI.....	23
4.1 Opis lokacije vzorčenja.....	23
4.2 Kemijska sestava cvetnega prahu.....	24
4.3 Ostanke pesticidov v cvetnem prahu.....	27
4.4 Ostanke policikličnih aromatskih ogljikovodikov (PAH).....	28
4.5 Ostanke polikloriranih bifenilov (PCB).....	28
4.6 Mikroskopska identifikacija cvetnega prahu.....	29
4.7 Težke kovine v cvetnem prahu.....	30
4.8 Določanje aminokislinske sestave cvetnega prahu.....	31
5 RAZPRAVA IN ZAKLJUČKI.....	32
6 SKLEPI .....	33
7 ZAHVALA .....	34
8 REFERENCE .....	35



## **KAZALO PREGLEDNIC**

Tabela 1 Kemijska sestava cvetnega prahu (Campos in sod., 2008).....	10
Tabela 2 Mikrobiološki in ostali onesnaževalci cvetnega prahu (Campos in sod., 2008).....	19
Tabela 3 Kemijska sestava cvetnega prahu v letu 2014 pridobljenega v Hoferjevem čebelnjaku. ....	23
Tabela 4 Odstotek cvetnega prahu določene botanične vrste v vzorcih cvetnega prahu.....	29
Tabela 5 Vsebnost težkih kovin v cvetnem prahu (sveža teža).....	29
Tabela 6 Vsebnost prostega Tyr in Trp v cvetnem prahu določenih botaničnih vrst (sveža teža).....	31

## **KAZALO SLIK**

Slika 1 Zrno cvetnega prahu pod mikroskopom; Slika 2 Čebele so vse bolj podvržene pomanjkanju .....	8
Slika 3 Čebela spravlja cvetni prah v celico satja. Slika 4 Čebele s koški cvetnega prahu na nožicah. ....	9
Slika 5 Aminokisliline so osnovni gradniki beljakovin. ....	11
Slika 6 Shematski prikaz pretoka HPLC .....	13
Slika 7 Tirozin (Tyr); Slika 8 Triptofan (Trp).....	21
Slika 9 Vsebnost surovih beljakovin v cvetnem prahu po različnih obdobjih pridobivanja. ....	23
Slika 10 Vsebnost maščob v cvetnem prahu po različnih obdobjih pridobivanja.....	25
Slika 11 Vsebnost pepela v cvetnem prahu po različnih časovnih obdobjih pridobivanja. ....	24
Slika 12 Vsebnost ogljikovih hidratov v cvetnem prahu po različnih obdobjih pridobivanja. ....	26
Slika 13 Vsebnost vode v svežem cvetnem prahu po različnih obdobjih pridobivanja cvetnega prahu. ....	27



## 1 UVOD

Čebelarstvo je v Sloveniji tradicionalna dejavnost, saj Slovenija po svetu slovi kot dežela avtohtone čebelje rase kranjske sivke (*Apis mellifera carnica*). Čebele in njihovi pridelki pa slovijo kot indikatorji čistosti okolja in v primeru propadanja čebeljih družin lahko takoj posumimo, da je nekaj v našem okolju hudo narobe. Seveda si čebelarji prizadevajo, da ohranjajo čebele, še posebej zaradi tega, ker so čebele glavne opraševalke različnega sadnega drevja, vrtnin in tudi nekaterih gospodarsko pomembnih kulturnih rastlin. S svojo dejavnostjo v naravi skrbijo za ohranjanje botanične raznovrstnosti.

Ob vsem tem pa nam čebele dajejo tudi čebelje pridelke, ki jih pogosto potrošniki poimenujejo zakladi čebeljega panja. Gre za edinstvena živila, ki ne bi smela manjkati na nobeni domači mizi, saj gre za popolnoma naravna živila, brez dodanih konzervansov, barvil in emulgatorjev, kar je v današnjem času prej izjema kot pa pravilo.

Sicer zaenkrat najbolj prepoznaven čebelji pridelek ostaja med, vse bolj pa se v zadnjem času povečuje med potrošniki tudi zanimanje za ostale čebelje pridelke, še posebej za cvetni prah. Zaradi slednjega je nujno potrebno raziskati značilnosti in lastnosti tega pridelka z namenom, da se potrošnikom zagotovi zdrava in varna hrana. Cvetni prah je tudi dober indikator onesnaženosti v okolju, zaradi česar je izredno zanimiv proizvod. S pomočjo čebeljih družin, ki prebivajo v HOFERJEVEM raziskovalnem čebelnjaku, ki je postavljen v upravno-logističnem centru podjetja, smo v letu 2014 pozornost namenili proučevanju cvetnega prahu. Zaradi izjemno slabe letine, ki so jo zabeležili tudi po ostalih območjih naše države in je tudi čebelarji z dolgim čebelarskim stažem ne pomnijo, nam ostalih čebeljih pridelkov ni uspelo pridobiti.

### 1.1 CILJ RAZISKAVE

V letu 2014 smo s pomočjo vzorčenja cvetnega prahu opravili pregled stanja onesnaženosti okolja in prvič s tega območja opravili tudi analize kemijske sestave cvetnega prahu. Naši dolgoročni cilji so:

- preveriti vpliv okolja na čebelje pridelke;
- ustvariti bazo mikroskopskih in kemijskih lastnosti cvetnega prahu;
- na podlagi izsledkov oblikovati nasvete glede uživanja čebeljih pridelkov, predvsem cvetnega prahu.



## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 Nastanek in pomen cvetnega prahu

Cvetni prah ali pelod je značilen za vsako posamezno cvetočo rastlinsko vrsto in je nekakšen prstni odtis vsake rastline, zaradi česar je edinstven in je osnova spolnega razmnoževanja rastlin (Kandolf, 2008).

Pelod vsebuje moške oplojevalne celice rastlin (Bogdanov, 2012). Nastaja v štirih podolgovatih pelodnih vrečkah t.i. prašnici, ki je spodnji, razširjeni del cvetnega organa prašnika. Ko prašnica dozori se odpre in na prašnikovo površino se sprosti na milijone pelodnih zrn. Cvetovi rastlin vsebujejo različno število zrn cvetnega prahu. Tako kot so različne rastline so različna tudi zrnca cvetnega prahu. Razlikujejo se po obliki, barvi in velikosti. Glede na velikost pelodnih zrn je tudi različen način opráševanja (Kandolf, 2008).

Opráševanje rastlin poteka na več načinov. Tiste rastline, ki jih oprášuje veter, imenujemo vetrocvetke. Pelod vetrocvetk je drobnejši, lažji in suh, zaradi česar ga lahko prenaša veter. Rastline, oprášene s pomočjo oz. posredovanjem žuželk, pa imenujemo žužkocvetke. Zrnca peloda žužkocvetk so hrapava, lepljiva, med seboj se sprijemajo in oprijemajo žuželk. Vetrocvetke imajo večje količine pelodnih zrn kot žužkocvetke. Žužkocvetke imajo zelo različno oblikovane cvetove, zato so tudi med rastlinami, ki jih oprášujejo žuželke, razlike v količini peloda (Kandolf, 2008).

Pri opráševanju žužkocvetk so izredno pomembne čebele. Sodelujejo pri opráševanju okoli 40.000 rastlinskih vrst in s svojo aktivnostjo v naravi predstavljajo nenadomestljivo vlogo pri ohranjanju biotske pestrosti in pri opráševanju različnih kmetijskih kultur (Bogdanov, 2012).

Palinologija je veda, ki preučuje cvetni prah fosilnih in današnjih rastlin. S pomočjo pelodne analize lahko ugotovimo vegetacijo okolja v preteklosti, saj se lahko pelodna stena zaradi svoje odpornosti ohrani milijone let. Z določanjem sedimentov v medu - cvetnega prahu lahko določimo tudi botanično in geografsko poreklo medu (Kandolf, 2008).

### 2.2 Pomen cvetnega prahu za čebeljo družino

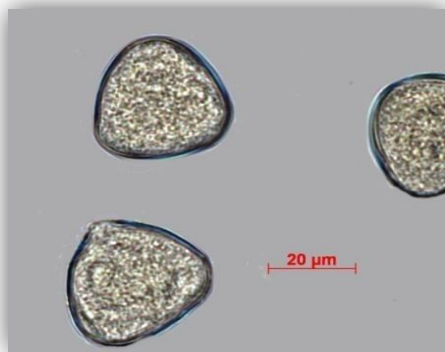
Barviti cvetovi in opojni vonji žužkocvetk privabljajo čebele. Čebele imajo telo pokrito z dlačicami, ki se jih cvetni prah, ko čebele sede na cvet, oprime. Nabrana zrnca cvetnega prahu čebele med seboj lepijo s slino, nektarjem ali medom iz mednega želodčka. Pri tem procesu ga hkrati obogatijo s svojimi encimi. Med letom se čebele očistijo, tako da cvetni prah spravijo v strukturo za prenašanje cvetnega prahu, ki se nahaja na zadnjih nožicah in se imenuje košek (Kandolf, 2008). Takšen skupek cvetnega prahu vsebuje do 10 % nektarja, ki je nujno potreben za zlepljanje zrn peloda (Campos in sod., 2008).

Čebela med vsakim letom v panj prinese od 16 do 24 mg cvetnega prahu (približno 3 do 4 milijone pelodnih zrn), kar predstavlja desetino njene teže. Cvetni prah nabirajo pašne čebele. Po cvetni prah lahko letijo dlje kot po nektar, saj porabijo manj časa na rastlino za nabiranje v primerjavi z nabiranjem

nektarja; poleg tega pa je tovor peloda lažji kot tovor nektarja. Nekatere rastline izločajo nektar in cvetni prah v točno določenem delu dneva. Čebele si to zapomnijo in se vračajo na te rastline vsak dan ob istem času. Ponavadi na enem izletu čebele nabirajo surovino samo na eni rastlini, kar se lahko ponavlja več dni (Kandolf, 2008), lahko pa skupek cvetnega prahu vsebuje tudi pelod različnih rastlin. V času nabiranja cvetnega prahu naredi čebela delavka okoli deset izletov dnevno (Bogdanov, 2012).

Cvetni prah predstavlja za čebeljo družino glavni vir beljakovin, ki so nujno potrebne za preživetje čebel. Čebelja družina porabi na leto od 30 do 50 kg cvetnega prahu. Čebele cvetni prah potrebujejo za vzrejo zalege in za razvoj. Velike količine cvetnega prahu potrebujejo predvsem v prvih dveh tednih življenja. Cvetni prah je nepogrešljiv pri razvoju krmilnih (goltnih) žlez pri mladih čebelah, ki izločajo matični mleček, saj v nasprotnem primeru ne morejo krmiti ličink. Pomanjkanje cvetnega prahu po izleganju čebel vpliva tudi na slab razvoj voskovnih žlez. Nepogrešljiv je tudi pri razvoju trotov, saj v primeru pomanjkanja ti ne razvijejo dovolj sperme, ki je potrebna za oprashitev matice. V jesenskem času, ko se čebele pripravljajo na prezimovanje, je cvetni prah velikega pomena za ustvarjanje maščobnih zalog in beljakovin, pomanjkanje pa je lahko tudi vzrok za nastanek bolezni (Kandolf, 2008).

Kakovost cvetnega prahu je različna od rastline do rastline. Čebele imajo nepogrešljiv nagon za ugotavljanje kakovosti oziroma hranilne vrednosti cvetnega prahu. Hranilno vrednost se ocenjuje glede na vsebnost beljakovin (Kandolf, 2008), verjetno pa je potrebno upoštevati prisotnost še kakšnih drugih sestavin cvetnega prahu.



Slika 1 Zrno cvetnega prahu pod mikroskopom;



Slika 2 Čebele so vse bolj podvržene pomanjkanju kakovostnega cvetnega prahu v naravi.

### 2.3 Cvetni prah glede na način pridobivanja

Pri pridelavi in predelavi cvetnega prahu moramo zagotoviti take pogoje, da cvetni prah ni podvržen fizikalnim, kemijskim ali mikrobiološkim tveganjem onesnaženja. Tako kot za med in ostale čebelje pridelke in izdelke iz čebeljih pridelkov čebelarji pri svojem delu upoštevajo Smernice dobrih higienskih navad v čebelarstvu na načelih sistema HACCP.



### 2.3.1 Osmukanec

Čebele prinašajo cvetni prah v koških svojih nožic v panj. Za pridobivanje osmukanca so čebelarji izdelali posebne naprave, ki se imenujejo smukalniki. Smukalnik se namesti na vhod čebeljega panja in je sestavljen iz drobnih luknjic, skozi katere se mora čebela, obložena s tovorom cvetnega prahu, stlačiti, če želi priti v panj. Pri tlačenju skozi drobne luknjice, se ji cvetni prah osmuka z njenih nožic v leseni ali plastični predalček smukalnika. Tako pridobljenemu cvetnemu prahu pravimo tudi obnožina.

**Cvetni prah osmukanec je bil tudi predmet naše raziskave.**

V naši nalogi smo kakovost cvetnega prahu določali na cvetnem prahu osmukancu, ki ga čebele ne uživajo neposredno, saj za svojo prehrano uporabljajo cvetni prah shranjen v celicah satja, v katerem poteče tudi fermentacija in naj bi bil glede na hranilno vrednost boljši. Različni strokovni viri navajajo majhne razlike v prehranski sestavi cvetnega prahu osmukanca in izkopanca.

Herbert in Shimanuki (1979) sta v raziskavi ugotovila, da je hranilna vrednost cvetnega prahu, tako cvetnega prahu osmukanca kot tudi cvetnega prahu izkopanca, identična vsaj pri *Apis mellifera*. Tudi Fernandes-da-Silva in sod. (2000) so dokazali, da način shranjevanja cvetnega prahu ne vpliva na spremembo njegove hranilne vrednosti, kar je potrdilo prej omenjena dejstva Herberta in Shimanukija (1979). Fernandes-da-Silva in sod. (2000) navajajo, da so potrebne še dodatne raziskave, ki bi potrdile njihove hipoteze o hranilni vrednosti cvetnega prahu predvsem na račun prisotnih združb mikroorganizmov.

Kljub navedbam zgoraj pa je splošno znano, da je hranilna vrednost cvetnega prahu - izkopanca za čebeljo družino višja od hranilne vrednosti osmukanca, posledično tudi za ljudi. Za večjo hranilno vrednost so odgovorni mikroorganizmi, ki izvirajo iz prebavil čebel ter pripadajo rodu *Lactobacillus* in *Bifidobacterium*, ki naj bi bili vključeni pri procesu fermentacije cvetnega prahu v celicah satja in tako prispevajo k povečanju hranilne vrednosti s proizvodnjo vitaminov (Brodschneider in Crailsheim, 2010).

Razlike med osmukancem in izkopancem so zelo slabo raziskane. Tudi vloga mikroorganizmov v izkopancu ni jasno definirana.

### 2.3.2 Izkopanec

Cvetni prah pa lahko čebele prinesejo tudi v panj, odložijo v celice satja, ki jih napolnijo do dveh tretjin s cvetnim prahom, ostalo tretjino pa napolnijo z medom in s tem preprečijo kvarjenje cvetnega prahu. Tako shranjen cvetni prah je nedostopen kisiku, zaradi česar začne fermentirati. Razvijejo se bakterije, ki izločajo mlečno kislino, ta je značilna sestavina tako skladiščene cvetnega prahu. Takšnemu cvetnemu prahu pravijo čebelarji tudi čebelji kruhek, saj predstavlja edino beljakovinsko hrano čebelam. Iz celic satja ga čebelarji pridobivajo tako, da ga izkopljejo, zato mu pravimo tudi izkopanec.



Slika 3 Čebela spravlja cvetni prah v celico satja. Slika 4 Čebele s koški cvetnega prahu na nožicah.

## 2.4 Sestava cvetnega prahu

Med predstavlja čebelji družini vir energije, cvetni prah pa je za čebeljo družino glavni vir ostalih pomembnih hranil, kot so proteini, minerali, maščobe in ostale substance. Prisotnost teh sestavin dokazuje, da se cvetni prah lahko uporablja tudi v prehrani ljudi (Campos in sod., 2008).

Cvetni prah je lahko mešanica različnih rastlinskih pelodov, zaradi česar se razlikuje tudi vsebnost hranilnih komponent (Campos in sod., 2008).

Tabela 1 Kemijska sestava cvetnega prahu (Campos in sod., 2008).

Glavne komponente	Vsebnost g/ 100 g suhe teže ( min - max )
<b>Beljakovine</b>	10-40
<b>Maščobe</b>	1-13
<b>Skupni ogljikovi hidrati</b>	13-55
<b>Vlknine, Pektin</b>	0,3-20
<b>Pepel</b>	2-6
<b>Nedoločljivo</b>	2-5
Minerali, elementi v sledovih	<b>mg/kg</b>
<b>Kalij (K)</b>	4000-20000
<b>Magnezij (Mg)</b>	200-3000
<b>Kalcij (Ca)</b>	200-3000
<b>Fosfor (P)</b>	800-6000
<b>Železo (Fe)</b>	11-170
<b>Cink (Zn)</b>	30-250
<b>Baker (Cu)</b>	2-16
<b>Mangan (Mn)</b>	20-110
Vitamini	<b>mg/kg</b>
<b>β-karoten</b>	10-200
<b>Tiamin (B1)</b>	6-13
<b>Riboflavin (B2)</b>	6-20
<b>Niacin (B3)</b>	40-110
<b>Pantotenska kislina (B5)</b>	5-20
<b>Piridoksin (B6)</b>	2-7
<b>Askorbinska kislina (vitamin C)</b>	70-560
<b>Biotin (H)</b>	0,5-0,7
<b>Folna kislina (B9)</b>	3-10
<b>Tokoferol (E)</b>	40-320



### 2.4.1 Vsebnost beljakovin in aminokislin

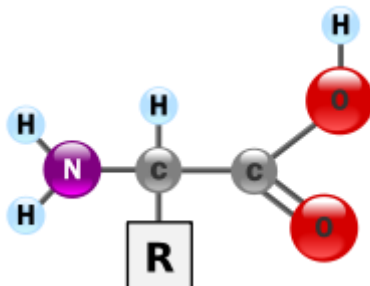
Beljakovine so nujno potrebna hranila za človeški organizem. So eden izmed gradnikov telesnega tkiva, lahko pa so tudi vir energije. Beljakovine vsebujejo 4 kcal/g, podobno kot ogljikovi hidrati, vendar manj kot maščobe (9 kcal/g). Beljakovine sestavljajo polimerne verige aminokislin, povezanih med seboj s peptidnimi vezmi. Med človeško prebavo se beljakovine razcepijo v želodcu na krajše polipeptidne verige s pomočjo klorovodikove kisline in proteaznega delovanja. To je pomembno za sintezo esencialnih aminokislin, ki jih naše telo ne more sintetizirati.

Vsebnost beljakovin v cvetnem prahu se po ugotovitvah več avtorjev giblje med 10 in 40 g/100 g suhe snovi (SS) (Herbert in Shimanuki, 1978; Solberg in Remedios, 1980; Bell in sod., 1983; Talpay, 1984; Szczesna in sod., 1995; Szczesna in Rybak-Chmielewska, 1998; Almeida-Muradian in sod., 2005; Soares de Arruda in sod., 2013) in je odvisna od botaničnega izvora (Campos in sod., 2008). Vsebnost beljakovin v cvetnem prahu se obravnava kot direktna zanesljiva meritev njegove prehranske vrednosti (Pernal in Currie, 2000; Cook in sod., 2003). Roulston in sod. (2000) so oblikovali bazo vsebnosti surovih beljakovin v ročno nabranem cvetnem prahu 377 rastlinskih vrst. Ugotovili so, da cvetni prah vetrocvetk ni beljakovinsko slabši od cvetnega prahu žužkocvetk. Čebele nabirajo cvetni prah, v katerem se vsebnost beljakovin giblje med 12 in 61 g/100 g SS. Human in Nicolson (2006) poročata o vsebnosti beljakovin v cvetnem prahu *Aloe greatheadii* var. *davyana*, ki je bila v povprečju 31,4 g/100 g SS. Leta 2013 pa sta poročala o vsebnosti beljakovin v cvetnem prahu sončnice (*Helianthus annuus* L., Asteraceae), ki je znašala 14,21 g/100 g SS. Carpes in sod. (2009) so ugotovili, da ima cvetni prah iz Brazilije vsebnost beljakovin med 15,04 in 27,69 g/100 g SS. Vsebnost beljakovin v portugalskem delno posušenem cvetnem prahu pa je bila med 24,23 in 34,18 g/100 g SS (Estevinho in sod., 2012). Feas in sod. (2012) poročajo o vsebnosti beljakovin v mešanici cvetnega prahu iz Portugalske, ki je bila v povprečju med 19,1 in 27,1 g/100 g SS. Iz Kitajske Yang in sod. (2013) poročajo, da se vsebnost beljakovin v cvetnem prahu giblje med 14,25 in 28,95 g/100 g SS. Ugotovili so, da je bila vsebnost beljakovin v vzorcih cvetnega prahu nabranega v drugi polovici leta za 20 % večja kot v prvi polovici leta.

Aminokislina so osnovni gradniki beljakovin. Aminokislina je vsaka molekula, ki vsebuje aminske (-NH<sub>2</sub>) kot karboksilno (-COOH) funkcionalno skupino skupaj s stransko verigo, specifično za vsako aminokislino. Ključni sestavni elementi aminokislin so ogljik, vodik, kisik in dušik skupaj z ostalimi elementi, ki se nahajajo na stranskih verigah posameznih aminokislin. Poznamo okoli 500 aminokislin, ki jih lahko klasificiramo v različne skupine. Lahko jih razdelimo v skupine glede na pozicijo funkcionalne skupine na  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  in  $\delta$  aminokislina, ostale skupine pa se navezujejo na polarnost, pH vrednost in tip stranske verige (alifatske, aciklične, aromatske, itd).

Polimerno verigo aminokislinskih ostankov (kar ostane od aminokislina, ko se odcepi molekula vode pri nastanku peptidne vezi), povezanih s peptidno vezjo, imenujemo polipeptid oziroma beljakovina (protein), če gre za daljšo verigo. Proces nastanka beljakovin v organizmu poteka s prevajanjem

informacijske RNA (mRNA). mRNA služi kot matrica za nastanek polipeptidne verige. Poznamo 20 standardnih aminokislin, nekatere med njimi imenujemo esencialne aminokislino. Ker jih naše telo ne more sintetizirati samo, jih moramo nujno vnašati v telo s hrano.



**Slika 5 Aminokislino so osnovni gradniki beljakovin.**

Vsebnost aminokislin definira hranilno vrednost cvetnega prahu bolj podrobno kot vsebnost skupnih beljakovin, saj je hranilna vrednost cvetnega prahu manjša, če so prisotne majhne količine esencialnih aminokislin (de Groot, 1953). V večini cvetni prah vsebuje vse esencialne aminokislino, vendar se količina le-teh razlikuje med vrstami cvetnega prahu (Roulston in sod., 2000). Kakovost beljakovin cvetnega prahu je odvisna od količine esencialnih aminokislin v odvisnosti od prehranskih potreb čebel (de Groot, 1953). Aminokislino prolin, glutaminska in asparaginska kislino, lizin in levcin so prevladujoče, saj predstavljajo približno 55 % skupnih aminokislin (Campos in sod., 2008). Tudi Yang in sod. (2013) poročajo, da so prolin, glutaminska in asparaginska kislino prevladujoče aminokislino v cvetnem prahu. Vsebnost skupnih esencialnih aminokislin v kitajskem cvetnem prahu se je gibala med 4,62 in 11,60 g/100 g SS (Yang in sod., 2013).

Večina cvetnih prahov vsebuje vse aminokislino, vendar nekatere vrste cvetnega prahu ne vsebujejo naslednjih aminokislin: fenilalanina, triptofana, prolina, tirozina in aminobutirične kislino. Triptofan in fenilalanin sta edini esencialni aminokislino, ki nista vedno prisotni v cvetnem prahu. Aminokislino v cvetnem prahu, katere niso prisotne v prostem stanju, ponavadi niso prisotne tudi kot vezane na proteinih (Stanley in Linskens, 1974). Solberg in Remedios (1948) sta ugotovila, da predstavljajo naslednje aminokislino 60 % vsebnosti proteinov v pelodnem zrnju: asparaginska kislino, glutaminska kislino, prolin, levcin, lizin in arginin. Med prostimi aminokislino največkrat manjka prolin, ki lahko predstavlja 1-2 % skupne mase beljakovin v zrnju cvetnega prahu (Stanley in Linkens, 1974).

Dandanes so izrednega pomena v živilih viri triptofana, ki zmanjšuje depresijo in anksioznost. Cvetni prah je vir triptofana, kar se bi lahko izkoristilo v prid večje prepoznavnosti in pomembnosti cvetnega prahu kot živila. Enako velja za aminokislino fenilalanin (Campos in sod., 2008).

Za določanje vsebnosti beljakovin večina avtorjev uporablja Kjedadlovo metodo. Z omenjeno metodo lahko v cvetnem prahu pa tudi drugih živilih izmerimo skupni dušik v analiziranemu vzorcu. Proteini in aminokislino v hrani so v veliki večini viri dušika (ogljikovi hidrati, maščobe, prehranska vlaknina dušika ne vsebujejo). Če določeno vsebnost dušika določenega v analiziranem vzorcu pomnožimo z ustreznim faktorjem glede na pričakovano vsebnost proteinov v določenem živilu, lahko tako dobimo

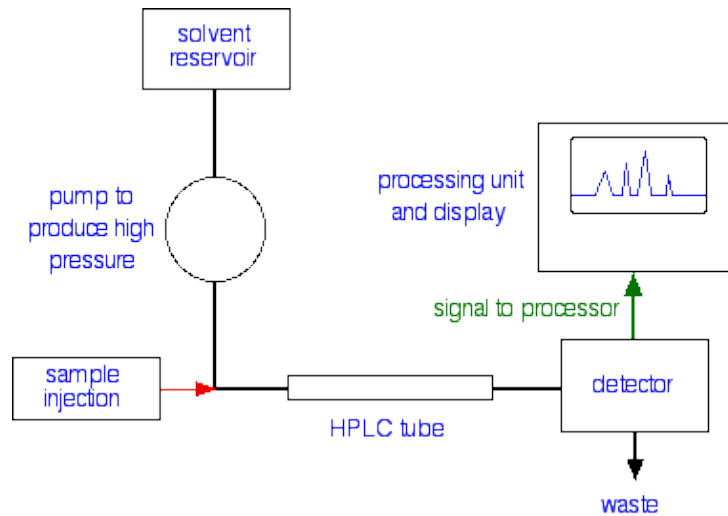


vsebnost surovih beljakovin. V večini primerov se za preračun uporablja faktor 6,25, saj je povprečna vsebnost dušika v proteinih 16 % (1/0,16).

Uporaba Kjeldahlove metode za preračun skupnega dušika v surove beljakovine je široko uporabna v analitiki hrane in pijač, katero priporoča tudi komisija AOAC, zato je postala uporabna za določanje surovih beljakovin v vrsti različnih živil. Poleg Kjeldahlove metode se za določanje vsebnosti beljakovin lahko uporablja tudi Dumasova metoda. Tudi v analitiki cvetnega prahu večina avtorjev uporablja za preračun skupnega dušika v surove beljakovine faktor  $N * 6,25$  (Campos in sod., 2008, Bogdanov, 2012). Čeprav nekateri avtorji navajajo tudi uporabo faktorja  $N * 5,6$  (Rabie, 1983), ki naj bi bil bolj primeren za cvetni prah. Metoda po Kjeldahlu zazna ves celokupen proteinski dušik v analiziranemu vzorcu živila. Ne zazna pa ne proteinskega dušika, ki je zelo variabilen in se nahaja na prostih aminokislinah, nukleotidih, kreatinu in holinu ... Ne proteinski dušik v živilih predstavljata tudi urea in amonijev nitrat, ki nimata nobene hranilne vrednosti za ljudi. FAO (*Food and Agricultural Organization of United Nations*) priporoča, da se lahko le na podlagi vsebnosti aminokislin v živilih določa mera za vsebnost beljakovin. Hkrati pa navaja, da kadar informacije o vsebnosti aminokislin v določenem živilu niso znane, se za določitev vsebnosti surovih beljakovin šteje za sprejemljivo metoda po Kjeldahlu. Študije vsebnosti beljakovin v cvetnem prahu kažejo zelo različne rezultate in metodološke težave zaradi različne količine dodanega nektarja s strani čebel pri izdelovanju zrnca cvetnega prahu (Roulston in Cane, 2000) in tudi zaradi različnega botaničnega izvora cvetnega prahu.

Metode za določanje aminokislin ponavadi temeljijo na kromatografskem ločevanju aminokislin prisotnih v analiziranemu vzorcu. Aparatura za detekcijo aminokislin je lahko visoko ali nizko tlačni tekočinski kromatograf, ki je sposoben s pomočjo mobilne faze ločevanja aminokislin na kromatografski koloni. Aparatura mora imeti možnost po kolonske ali pred kolonske derivatizacije. Ponavadi se uporablja ultravijolični ali fluorescentni detektor, kar je odvisno od uporabljene metode derivatizacije. Analogni signal aparature se s pomočjo snemalne naprave zabeleži v obliki kromatograma, ki se uporablja za kvantifikacijo določene aminokislinae.

V tujih raziskavah se avtorji poslužujejo določanja aminokislin v cvetnem prahu s pomočjo ionsko izmenjevalne kromatografije (Vanderplanck in sod., 2013; Weiner in sod., 2010), aminokislinskih analizatorjev (Waters HPLC amino acid analyser) (Human in Nicolson, 2006; Yang in sod., 2013), tekočinske kromatografije s fluorescenčnim detektorjem (Gonzales Paramas in sod., 2006; Zhang in sod., 2009). Za detekcijo aminokislin v vzorcih cvetnega prahu pa lahko uporabimo tudi tekočinsko kromatografijo z elektrokemijskim detektorjem, ki smo jo uporabili v našem primeru in katere prednost je, da v primerjavi z analizatorji vzorec lahko bistveno bolj razredčimo.

**Slika 6 Shematski prikaz pretoka HPLC**

Triptofan (Trp) je ena izmed 20 standardnih aminokislin, ki je tudi esencialna aminokislina v človeški prehrani. Ima pomembno vlogo pri proteinski biosintezi, deluje pa tudi kot perkurzor za nekatere pomembne fiziološko aktivne substance (serotonin). Detekcija brez derivatizacije je možna zaradi strukturnih lastnosti. Trp je esencialna aminokislina in je prekurzor serotonina. Podobne lastnosti pa ima tudi aminokislina tirozin (Tyr), ki je perkurzor melanina in adrenalina ter ščitničnih hormonov. Obe aminokislini sta bili določeni v nekaterih monoflornih vrstah cvetnega prahu.

#### 2.4.2 Vsebnost vode

Voda je v cvetnem prahu naravno prisotna. V svežem cvetnem prahu je njena količina odvisna od rastline, vremena in načina pridobivanja cvetnega prahu (Božnar, 2011). V svežem cvetnem prahu je med 20 in 30 % vode, zato je zelo pomembno shranjevanje takšnega cvetnega prahu. To mora potekati v zamrzovalniku, da se izognemo pojavu bakterij in plesni (Campos in sod., 2008).

Vsebnost vode v cvetnem prahu je pomemben kriterij kakovosti. Velika vsebnost vode lahko poveča aktivnost mikroorganizmov in encimov, ki lahko vplivajo na spremembo senzoričnih lastnosti proizvoda (Morgano, M. A. in sod., 2011). Če je vsebnost vode v cvetnem prahu večja kot 10 %, je nevarnost, da bo pričel fermentirati (Bogdanov, 2012).

Po drugi strani pa lahko prekomerno zmanjšanje vsebnosti vode vpliva na hiter pojav žarkosti. Tveganje pri uživanju visoko hranilne hrane, kot je cvetni prah, ki vsebuje veliko vsebnost vode in ga hranimo na sobni temperaturi, je kontaminacija z glivami, ki lahko proizvajajo kancerogene mikotoksine. Zato je potrebno cvetni prah pred skladiščenjem sušiti, da mu zmanjšamo vsebnost vode. Sušenje moramo izvesti pod kontroliranimi pogoji, da ne uničimo občutljivih sestavin. Omogočiti





moramo integriteto njegovih sestavnih delov kot tudi njegove biološke lastnosti (Morgano, M.A. in sod., 2011).

Določanje vode je zelo težavno, saj se pri sušenju cvetnega prahu zaradi visoke temperature razgrajujejo organske sestavine, na katere je vezana voda, zaradi tega se tudi izgubljajo aromatične snovi (Gergen, I. in sod., 2006). Pri ocenjevanju senzoričnih lastnosti cvetnega prahu v Švici so ugotovili, da cvetni prah, ki vsebuje manj kot 6 % vode, postane preveč suh in je manj sprejemljiv iz senzoričnega vidika (Bogdanov, 2012).

Vsebnost vode v cvetnem prahu določamo ali s sušenjem do konstantne teže v sušilni omari ali infrardeči pečici ali s Karl-Fischerjevo metodo (Campos in sod., 2008). Nekatere države so postavile minimalne zahteve vsebnosti vode za posušen cvetni prah. V Braziliji sme posušen cvetni prah vsebovati največ 4 g/ 100 g, v Švici in Poljski največ 6 g/ 100 g, v Urugvaju največ 8 g/ 100 g in Bolgariji največ 10 g/ 100 g vode (Campos in sod., 2008).

### **2.4.3 Vsebnost maščob**

Obstajajo velike razlike glede maščobne sestave cvetnega prahu v povezavi z botaničnim poreklom. V večini so v cvetnem prahu zastopane predvsem polarne in nevtralne maščobe (monogliceridi, digliceridi in trigliceridi) kot tudi majhne količine maščobnih kislin in sterinov (Campos in sod., 2008).

Analize plinske kromatografije kažejo, da izvleček maščob iz cvetnega prahu sestavljajo predvsem linolenska, palmitinska, linolna in oleinska kislina. Nenasičene maščobne kisline predstavljajo v povprečju 70 % vseh maščobnih kislin (Campos in sod., 2008).

Objavljenih je bilo že nekaj študij o vsebnosti lipidov v cvetnem prahu. Ena študija poroča, da predstavljajo proste maščobne kisline 3 % skupnih lipidov, in sicer je približno polovica nenasičenih maščobnih kislin, kot so oleinska, linolna in linolenska kislina. V študiji, ki je zajela cvetni prah iz različnih geografskih območij, je bilo ugotovljeno, da je vsebnost nenasičenih maščobnih kislin od 50 do 60 %. Prevladujejo predvsem oleinska, linolna in  $\alpha$ -linolenska kislina, preostanek predstavljajo nasičene maščobne kisline, v glavnem palmitinska kislina. Ostale fiziološko pomembne komponente pa so steroli (Bogdanov, 2012).

Vsebnost maščob v cvetnem prahu se določi s pomočjo ekstrakcije s petroletrom (Bogdanov, 2012).

### **2.4.4 Vsebnost mineralnih snovi**

Cvetni prah je zaradi mineralnih snovi in elementov v sledovih zelo cenjena hrana, lahko bi rekli popolna hrana za človeka. V cvetnem prahu so našli vse elemente v sledovih, ki so tudi v človeškem telesu. Vsebuje številne sestavine, ki ugodno vplivajo na njegovo prehransko in zdravilno vrednost (Božnar, 2011).



Med elementi je v cvetnem prahu najbolj zastopan K (okoli 60 % celotne količine mineralov), sledijo Mg (okoli 20 % celotne količine mineralov), Na in Ca (okoli 10 % celotne količine mineralov) (Campos in sod., 2008).

#### 2.4.5 Vsebnost ogljikovih hidratov

V večini so v cvetnem prahu prisotni polisaharidi, kot so: škrob in različne sestavine celičnih sten. Izračunana vsebnost ogljikovih hidratov je ponavadi višja kot tista, ki jo določamo z analitičnimi metodami (tekočinska in plinska kromatografija). Do tega pride, ker se ponavadi z analitičnimi metodami ne da določiti v celoti prehranske vlaknine in sestavin celičnih sten. Lahko pa računsko podamo njuno skupno vrednost. Od celote odštejemo vsebnost vode, maščob, beljakovin in vsebnost pepela. Med nižje molekularnimi sladkorji predstavljajo fruktoza, glukoza in saharoza okoli 90 % vseh enostavnih sladkorjev, delež pa je odvisen tudi od vrste rastline. Razmerje med F/G je med 1,0 in 2,5 (Campos in sod., 2008).

#### Prehranska vlaknina

Prehranska vlaknina je sestavljena iz škroba in netopnih polisaharidov, kot sta celuloza in sporopolenin itd. Vrednosti vsebnosti prehranske vlaknine so zelo različne, kar je posledica uporabe različnih metod določanja in specifične sestave peloda različnih rastlin (Bogdanov, 2012).

Na splošno je vsebnost ogljikovih hidratov v cvetnem prahu določljiva s kalkulacijo, saj je skupna vsebnost ogljikovih hidratov težko določljiva (Bogdanov, 2012).

### 2.5 Pregled možnih onesnaževalcev cvetnega prahu

#### 2.5.1 FIZIKALNO ONESNAŽENJE

Cvetni prah, ki je namenjen za prehrano, ne sme vsebovati nečistoč, kot so delci čebel, mrtvice ali voska, delci rastlin ali insekti, delci poapnele zalege in druga mehanska nesnaga. Prav tako cvetnega prahu ne pridobivamo iz družin, katere so oslabiljene. Cvetni prah je tudi idealna hrana za voščeno večjo (voščene molja), zato lahko v njem najdemo tudi delce večje, ličinke in jajčeca. Vse fizikalne nečistoče je potrebno iz cvetnega prahu odstraniti. To storimo z ročnim prebiranjem ali z zračnimi čistilci. Končno pa je vsak cvetni prah zaželeno kontrolirati tudi s povečevalnim steklom in čiščenje dokončati z ročnim prebiranjem.

#### 2.5.2 KEMIJSKO ONESNAŽENJE – vpliv zunanjega okolja

Onesnaževalci v okolju izvirajo iz zraka, vode, prsti in se lahko preko čebel prenesejo v različne čebelje pridelke.





### **2.5.2.2 Težke kovine**

Industrija in promet sta glavna vira pojava težkih kovin v zraku in prsti. Svinec in kadmij sta najpogostejši težki kovini, saj prvi izvira v glavnem iz prometa, vir kadmija pa je kovinska industrija in sežigalne peči. Kadmij se nalaga v tleh in zaradi tega lahko pride po rastlini v nektar ali mano ali se kopiči v telesu čebel (Bogdanov, 2006 in Pryzbylowaki, 2003), medtem ko je svinec v glavnem prisoten v zraku in lahko onesnaži nektar, mano in cvetni prah. Težke kovine so stalno prisotne v naravi in se ne razgrajujejo, zaradi česar se lahko nabirajo tudi na dlačicah čebeljih teles in se na takšen način prenesejo preko nektarja, mane, vode in cvetnega prahu v čebelji panj (Bortolotti in sod., 2003).

Bogdanov (2006) poroča o vsebnosti svinca v cvetnem prahu v koncentraciji 0,02-3,9 mg/kg in o vsebnosti kadmija v količini 0,05-2,3 mg/kg. Kljub možnemu pojavu le-teh v cvetnem prahu in ostalih čebeljih pridelkih pa vsebnost težkih kovin v čebeljih pridelkih ni predpisana (Bogdanov, 2006).

### **2.5.2.3 Radioaktivni elementi**

Bogdanov (2006) poroča, da prisotnost radioaktivnih elementov v čebeljih pridelkih ni problem, razen ob morebitnih nesrečah. V čebeljih pridelkih se potencialno lahko pojavita  $^{40}\text{K}$  in  $^{137}\text{Cs}$ . Prvi je v naravi naravno prisoten, medtem ko je prisotnost drugega posledica jedrske nesreče v Černobilu. Radioaktivnost izražamo v Becquerel (Bq) na kg. Najvišja dovoljena vrednost prisotnosti radioaktivnih elementov v živilih je 600 Bq/kg.

V cvetnem prahu iz Ukrajine so med leti 1986 in 1989 zaznali radioaktivni  $^{137}\text{Cs}$  v količinah 11070 Bq/kg, v Franciji 283 Bq/kg, v Italiji 1000-2500 Bq/kg in na Hrvaškem 20-32,3 Bq/kg (1990) (Bogdanov, 2006).

### **2.5.2.4 Organska onesnažila**

Vir le-teh so motorna olja, ohlajevalna sredstva in maziva, ki so bila proizvedena pred letom 1980. Govorimo o PCB oz. polikloridnih bifenilih. Te substance so še vedno prisotne v našem okolju in lahko onesnažijo rastline, čebele in čebelje pridelke (Bogdanov, 2006). Policiklični aromatski ogljikovodiki (PAH-i) so pomembna okoljska onesnažila, ki nastanejo in se sproščajo pri nepopolnem izgorovanju ali s pirolizo organske snovi, med industrijskim procesom ali drugimi človeškimi aktivnostmi (Šešerko, 2008).

### **2.5.2.5 Pesticidi iz kmetijstva**

Pesticide iz kmetijstva delimo na insekticide, herbicide, baktericide in fungicide (Bogdanov, 2006). V zadnjem času je velika pozornost namenjena prav imidaclopridu, ki je sistemski insekticid (Bogdanov, 2006) in se uporablja za obdelavo semen koruze. Bogdanov (2006) ugotavlja, da je prisotnost imidacloprida mogoče zaznati v nektarju, medu in cvetnem prahu v zelo nizkih koncentracijah od



0,001 do 0,005 mg/kg. Po drugi strani pa Chauzat in sod. (2006) poročajo o prisotnosti imidacloprida v 49 % vzorcev analiziranega cvetnega prahu. Poleg imidacloprida pa so zaznali tudi vsebnosti tao-fluvalinata in kumafosa, ki se lahko uporabljata tudi v čebelarstvu.

Za čebelje pridelke ni maksimalno dovoljene vsebnosti pesticidov. Švicarji imajo postavljene meje tolerance glede prisotnosti imidacloprida v koruzi, in sicer do 0,01 mg/kg in v sadju do 0,05 mg/kg. Do sedaj ostanki imidacloprida, ugotovljeni v medu in cvetnem prahu, naj ne bi predstavljali težav za zdravje ljudi, medtem ko je vpliv imidacloprida na čebele večji problem (Bogdanov, 2006). V Sloveniji je uporaba koruznih semen tretiranih z imidaclopridom prepovedana.

V cvetnem prahu pa se lahko najdejo tudi fungicidi, ki se uporabljajo za zatiranje škodljivcev na sadnem drevju in poljščinah. Fungicidi so tudi največkrat prisotni v cvetnem prahu. Tudi herbicidi prizadenejo v veliki meri čebele in cvetni prah, redkeje pa so prisotni v medu.

Proti bakterijskim boleznim sadja pa se uporabljajo tudi antibiotiki, predvsem streptomycin, ki se uporablja za zdravljenje peškastega sadja. Njegovo prisotnost so kot pogosto ugotovili v 21 % vzorcev iz Nemčije. Prav zaradi tveganja prisotnosti tega antibiotika v čebeljih pridelkih v večini držav ES ni dovoljen za uporabo (Bogdanov, 2006).

Čebele so s svojo prisotnostjo v naravi biološki indikatorji čistosti določene geografske regije. Imajo pa tudi vlogo filtra, saj lahko začetno koncentracijo pesticidov v nektarju v času pretvorbe v med zmanjšajo za faktor 1000. Moderni pesticidi pa so v večini tudi nestabilni in hitro razpadejo. Najvišja dovoljena meja vsebnosti pesticidov v čebeljih pridelkih še ni postavljena, je pa vsebnost pesticidov v čebeljih pridelkih primerljiva s prisotnostjo pesticidov v drugih živilih in prisotnost le-teh naj ne bi predstavljala problemov za zdravje ljudi. Da zmanjšamo pojav pesticidov v čebeljih pridelkih se le-teh naj ne uporablja v času cvetenja rastlin ali med pašno aktivnostjo čebel. Čebelnjaki naj bodo od intenzivnih kmetijskih površin, kjer se uporabljajo pesticidi, oddaljeni vsaj 3 km (Bogdanov, 2006). Če se zaradi varstva rastlin teh le poslužujemo, uporabljajmo le-takšne, ki so čebelam neškodljivi, in izvajajmo škropljenja zvečer, v brezvetrju, ko so čebele v panjih in se lahko aplicirano sredstvo do jutra posuši. Z medsebojnim sodelovanjem kmetov in čebelarjev lahko zelo zmanjšamo vplive le-teh tako na čebele kot tudi na čebelje pridelke.

### ***2.5.2.6 Gensko spremenjene rastline***

V zadnjih nekaj letih se pojavlja vse več gensko spremenjenih rastlin in tudi cvetnega prahu. V literaturi pa nisem zasledila, da bi bila opravljena kakšna študija o vplivu gensko spremenjenega cvetnega prahu na humano prehrano. Potrošniki se moramo zavedati tega problema. V EU je predpis o označevanju izdelkov, ki vsebujejo gensko spremenjene organizme, saj če se ti pojavijo v koncentraciji večji kot 0,9 %, mora biti takšen izdelek tudi označen, da vsebuje gensko spremenjene organizme (Campos in sod., 2008).



V Sloveniji zaenkrat gojenje GSO ni dovoljeno. S tem pridobivamo na konkurenčnosti v primerjavi z državami, kjer je gojenje GSO dovoljeno in se ti pojavljajo v različnih živilih. Kot že omenjeno, pa zaenkrat ni znanega vpliva prisotnosti GSO v hrani na zdravje ljudi.

### 2.5.3 KEMIJSKO ONESNAŽENJE – vpliv čebelarstva

V čebelarstvu se zaradi ohranitve čebel pred parazitom *Varroa destructor* uporabljajo akaricidi, ki so lahko sintetični ali naravni. Cvetni prah osmukanec je čebelji pridelek, ki je najmanj podvržen vplivom čebelarjenja, saj se pridobiva pred vhodom v čebelji panj (Bogdanov, 2012). Ostali čebelji pridelki, predvsem vosek in med, so lahko veliko bolj obremenjeni z ostanki akaricidov v primerjavi s cvetnim prahom, v kolikor se v čebelarstvu uporabljajo. V naši raziskavi, kjer je bil predmet raziskave cvetni prah osmukanec, analiz na ostanki akaricidov nismo opravljali.

### 2.5.4 MIKROBIOLOŠKO ONESNAŽENJE

Čebelarji so začeli cvetni prah intenzivneje pridobivati šele v drugi polovici 20. stoletja, zato govorimo o relativno mladem proizvodu, kateri je na splošno med potrošniki premalo poznan.

Svež cvetni prah – osmukanec vsebuje med 20 in 30 % vode, zaradi česar je idealno gojišče za mikroorganizme, kot so npr. bakterije in kvasovke. Svež cvetni prah pa je tudi privlačna hrana za različne majhne živalce (Božnar, 2011). Zrnca cvetnega prahu čebele med seboj vlažijo in s tem se v cvetnem prahu – osmukancu znajdejo tudi določeni mikroorganizmi, ki izvirajo iz prebavil čebel kot so plesni, kvasovke in bakterije.

Z namenom preprečevanja kvarjenja cvetnega prahu – osmukanca in ohranjanja njegove kakovosti zahteva pridelava le-tega visoke higienske standarde in vestno delo pri njegovem pridobivanju. Da se prepreči kvarjenje, je potrebno pobirati cvetni prah vsak dan in ga takoj zamrzniti z namenom, da se zavre rast škodljivcev. Po odvzemu iz zamrzovalnika ga je potrebno čim prej predelati. To storimo bodisi tako, da ga posušimo ali ga dodamo v med. Kljub mikrobiološki občutljivosti pa ima svež cvetni prah ohranjene vse naravne sestavine in visoko hranilno vrednost ter je za človeka bolj prebavljiv kot posušen (Božnar, 2011).

Otrokom do 1. leta starosti cvetnega prahu ne dajemo. Razlog je enak kot pri medu – cvetni prah je surova hrana in lahko vsebuje spore bakterije *Clostridium botulinum* (Božnar, 2011), v primeru nehigijskega pridobivanja pa je lahko cvetni prah vir okužb tudi z drugimi patogenimi bakterijami.

**Tabela 2** Mikrobiološki in ostali onesnaževalci cvetnega prahu (Campos in sod., 2008).

Mikrobiološke analize	Vrednosti
<i>Salmonella</i>	brez/10 g
<i>Staphylococcus aureus</i>	brez/1 g
<i>Enterobacteriaceae</i>	max. 100/g
<i>Escherichia coli</i>	brez/ g
Skupne aerobne bakterije	< 100.000/g
Plesni in kvasovke	< 50.000/g
Alfatoksin B1	max 2 lg/kg
Alfatoksin B1+B2+G1+G2	max. 4 lg/kg
Ostale analize	<b>Vrednosti</b>
<b>Pesticidi</b>	< MRL *
<b>Piretroidi</b>	< MRL
<b>Kloramfenikol</b>	brez
<b>Metaboliti nitrofurana</b>	brez
<b>Sulfonamidi</b>	brez
<b>Težke kovine Pb</b>	max. 0,5 mg/kg
<b>Težke kovine Hg</b>	max. 0,01 mg/kg
<b>Težke kovine Cd</b>	max 0,03 mg/kg
<b>Radioaktivnost (Cs-134 in Cs-137)</b>	< 600 Bq/kg

\*Morajo biti manjše od vrednosti, ki so določene za med.

Trenutno ni nobenih specifičnih omejitev glede onesnaževalcev cvetnega prahu. Tako kot pri medu tudi v cvetnem prahu ni dovoljena prisotnost nobenih antibiotikov. Na splošno pa se kaže, da je bakterijsko onesnaženje večji problem kot onesnaženje s pesticidi, antibiotiki in težkimi kovinami (Campos in sod., 2008). V objavi Camposove in sod. (2008) so sicer navedene omejitvene vrednosti vsebnosti nekaterih težkih kovin v cvetnem prahu, vendar v nam poznani zakonodaji omejitve vsebnosti težkih kovin za cvetni prah niso predpisane.

## 3 MATERIAL IN METODE

V času od aprila do septembra smo na lokaciji čebelnjaka HOFER odvzemali vzorce cvetnega prahu iz šestih čebeljih družin. Cvetni prah smo odvzemali s pomočjo zunanjih in notranjih smukalnikov cvetnega prahu. Za potrebe analiz smo odvzete vzorce cvetnega prahu iz šestih družin enakomerno združili, tako da smo ustvarili reprezentativni vzorec. Po odvzemu so bili zamrznjeni do izvedbe analiz.

### 3.1 Določanje vsebnosti beljakovin v cvetnem prahu

Mnogi avtorji navajajo, da se hranilna vrednost cvetnega prahu ocenjuje glede na vsebnost beljakovin v cvetnem prahu. V vzorcih smo določili vsebnost celotnega dušika (t.j. Kjeldahlov dušik), ki smo jo množili s faktorjem 6.25 ( $C_N \times 6.25 = C_{\text{beljakovin}}$ ).

Zatehto vzorca (približno 0,2 g) smo kuhali v mešanici žveplene kisline, salicilne kisline in katalizatorja) minimalno 2 uri pod refluksom, da nastane bistra raztopina. V raztopini smo titrimetrično določili vsebnost dušika (kot amonij), titracija z 0,1 M HCl s potenciometrično indikacijo ekvivalentne točke.



(Reference: AOAC 945.23 in 981.10, Standard ISO 11261:1996 modif.)

### 3.2 Določanje vsebnosti maščob v cvetnem prahu

Zatehti vzorca (približno 1 g) smo dodali HCl in hidrolizirali pod reflukso 2 uri. Nato smo prefiltrirali, preostanek na filtru posušili in ekstrahirali na Soxhlet aparaturi s petroletrom. Topilo smo odparili, posušili in gravimetrično določili vsebnost maščob.

(Reference: Fat Determination according to Weibull-Stoldt-Standard Application, No. E-416-E-816-Sox-001, Buchi, AOAC 963.15)

### 3.3 Določanje vsebnosti vode v cvetnem prahu

Vsebnost suhe snovi (oz. vlage) smo določili gravimetrično ob sušenju na 105 °C do konstantne teže v laboratorijskem sušilniku (običajno > 6 ur). (Metoda povzeta SIST EN 14346: 2007).

### 3.4 Določanje vsebnosti pepela v cvetnem prahu

Vsebnost pepela v cvetnem prahu smo določali gravimetrično. Določimo ga s tehtanjem suhega, ohlajenega mineralnega preostanka po sežigu organske snovi pri 500-600 °C ob prisotnosti kisika. (AOAC 920.181)

### 3.5 Določanje vsebnosti ogljikovih hidratov v cvetnem prahu

Vsebnost ogljikovih hidratov je bila določena računsko. To pomeni da od celote odštejemo vsebnost vode, maščob, beljakovin in vsebnost pepela.

Skupni ogljikovi hidrati = 100 - (g beljakovin + g maščob + g pepela)

### 3.6 Določanje energijske vrednosti

Energijska vrednost cvetnega prahu je bila določena računsko na podlagi naslednje enačbe. kcal smo pretvorili v kJ.

Energijska vrednost (kcal) = 4 x (g beljakovin + g ogljikovih hidratov) + 9 x (g maščob)

### 3.7 Določanje ostankov vsebnosti FFS v cvetnem prahu

Ostanki FFS so bili določani na podlagi kvalitativne analize DRS SCAN posnetka.

### 3.8 Mikroskopska identifikacija cvetnega prahu

Za identifikacijo cvetnega prahu se je uporabila harmonizirana melisopalinološka metoda, ki se uporablja za določanje cvetnega prahu v medu (von der Ohe in sod., 2004). Reprezentativni vzorec mešanic za identifikacijo sta predstavljala 2 g takšnega vzorca (približno 300 pelodnih zrn), ki sta bila identificirana na prisotnost posameznih botaničnih vrst (Barth in sod., 2010). V pomoč pri identifikaciji pa je bil opravljen tudi terenski popis rastlin spomladanskega in poletnega obdobja.

### 3.9 Določanje težkih kovin v cvetnem prahu

Za detekcijo težkih kovin v cvetnem prahu (Pb, Cd, Zn, Fe, Cu, Co, Au, Ag, Al, Pt, Pd, Rh) so bili vzorci cvetnega prahu predhodno homogenizirani. Sledilo je raztapljanje alikvota vzorca v mešanici

anorganskih kislin pod vplivom mikrovalov. Meritev je bila izvedena z induktivno sklopljeno plazmo z masno spektrometrijo (ICP-MS).

### 3.10 Določanje policikličnih aromatskih ogljikovodikov (PAH)

Za določanje policikličnih aromatskih ogljikovodikov (PAH) je bila predhodno izvedena homogenizacija vzorca, kateri je sledila ekstrakcija alikvota vzorca (trdno-tekoče) z mešanico organskih topil. Analizirana raztopina predhodno pripravljenega vzorca je bila analizirana s pomočjo plinske kromatografije z masno spektrometrijo (GC-MS).

### 3.11 Določanje polikloriranih bifenilov (PCB)

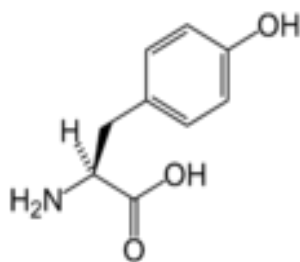
Za določanje polikloriranih bifenilov (PCB) je bila predhodno izvedena homogenizacija vzorca, sledila je ekstrakcija alikvota vzorca (aktrakcija trdno-tekoče) z mešanico organskih topil. Analizirana raztopina predhodno pripravljenega vzorca je bila analizirana s plinsko kromatografijo z detektorjem na zajem elektronov (GC-ECD).

### 3.12 Določanje aminokislinske sestave cvetnega prahu (tirozin-Tyr in triptofan-Trp)

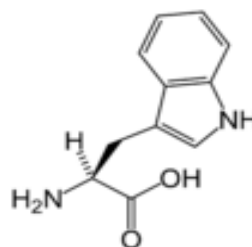
Aminokislinska sestava cvetnega prahu je bila določena preliminarno na monoflornih vrstah cvetnega prahu, ki smo jih pred analizo ločili po barvah in mikroskopsko identificirali. Uporabili smo visokotlačno tekočinsko kromatografijo (HPLC) z elektrokemijskim detektorjem (ECD). Metoda je še v razvijanju in izpopolnjevanju.

Direktno brez predhodne derivatizacije smo z uporabo HPLC ECD detektirali dve prosti aminokislini. To sta aminokislini tirozin (Tyr) in triptofan (Trp). Proste aminokislino so lahko detektirane brez hidrolize vzorcev, vendar hidroliza pod kislimi pogoji je nujno potrebna, ko določamo skupne aminokislino v vzorcih cvetnega prahu. Težava se pojavi ker Trp ni obstojen pod takšnimi pogoji. Posledično je bil velikokrat prezrt v raziskavah, ki so se navezovala na aminokislinski profil cvetnega prahu.

Za pripravo standardne raztopine smo uporabili aminokislinske standarde, ki so komercialno dostopni. Količino standarda (10 mg) smo raztopili v bidestilirani vodi ter za uporabo na HPLC ECD raztopino razredčili (1:10) s predhodno pripravljenim pufrom, ki smo ga uporabili tudi kot mobilno fazo. Pretok skozi sistem je bil 1 ml/min, pritisk 120 barov, volumen injiciranja vzorca 10 µl.



Slika 7 Tirozin (Tyr)



Slika 8 Triptofan (Trp)



### 3.13 Statistična analiza

Rezultati so prikazani v povprečnih vrednostih  $\pm$  standardna deviacija (SD) in mediana (Me). Razlike med vzorci so bile testirane s testom variance ANOVA-enosmerna, kateri je sledil Duncanov test s statistično značilno vrednostjo  $\alpha=0,05$ . Uporabljen je bil statistični program SPSS.

## 4 REZULTATI

### 4.1 Opis lokacije vzorčenja

Raziskovalni čebelnjak v upravno-logističnem centru podjetja HOFER v premeru 3 km, kar je tudi povprečen let čebel, obdaja 28 % travniških površin. Sem sodijo površine porasle s travo, deteljami in drugimi krmnimi zelmi, ki se jih redno kosi oziroma pase. Takšna površina ni v kolobarju in se ne orje. Kot trajni travnik se šteje tudi površina, porasla s posameznimi drevesi, kjer gostota dreves ne presega 50 dreves. 36 % površin predstavlja gozd, 12 % predstavljajo ostala nekmetijska zemljišča. To so površine, na kateri so zgradbe, ceste, ki vodijo do naselij ali hiš, parkirni prostori, rudniki, kamnolomi in druga infrastruktura, ki služi za opravljanje človeških dejavnosti. 19 % predstavljajo njive in vrtovi. To je površina, ki jo orjemo ali drugače obdelujemo in obračališča, namenjena obdelavi te površine (širine do 2 m). Na tej površini pridelujemo enoletne in nekatere večletne kmetijske rastline (žita, krompir, krmne rastline, oljnice, predivnice, sladkorna pesa). 1 % površine predstavljajo trajni nasadi. To so predvsem sadovnjaki, ki niso primerni za intenzivno pridelavo. To je običajno nasad visokodebelnih sadnih dreves, vzgojenih na bujni podlagi ali iz semena, z gostoto več kot 50 dreves na hektar. 1 % predstavljajo prav tako trajni nasadi, in sicer površina, zasajena s sadnimi vrstami, pri obdelavi katere se uporabljajo sodobne intenzivne tehnologije. Intenzivni sadovnjak zajema površino nasada skupaj z obračališči in potmi ter brežinami, če je nasad zasajen v terasah. 1 % predstavlja površina porasla z drevesi in grmičevjem. Sem uvrščamo tudi obvodno zarast, če so obrečni pasovi porasli z drevjem oziroma grmovjem, ter mejice iz gozdnih dreves oziroma grmičevja. 1 % predstavljajo ostala nekmetijska zemljišča in jih predstavljajo vode. Gre za površino, pokrito s površinskimi vodami, kot so jezera, reke, potoki in jarki, v katerih se nahaja voda.

V 3km območju preverjanja ni zajeto nobeno registrirano komunalno oz. industrijsko odlagališče. Se pa lokacija vzorčenja nahaja 3,4 km SZ od komunalnega odlagališča JKP PRODNİK d.o.o.



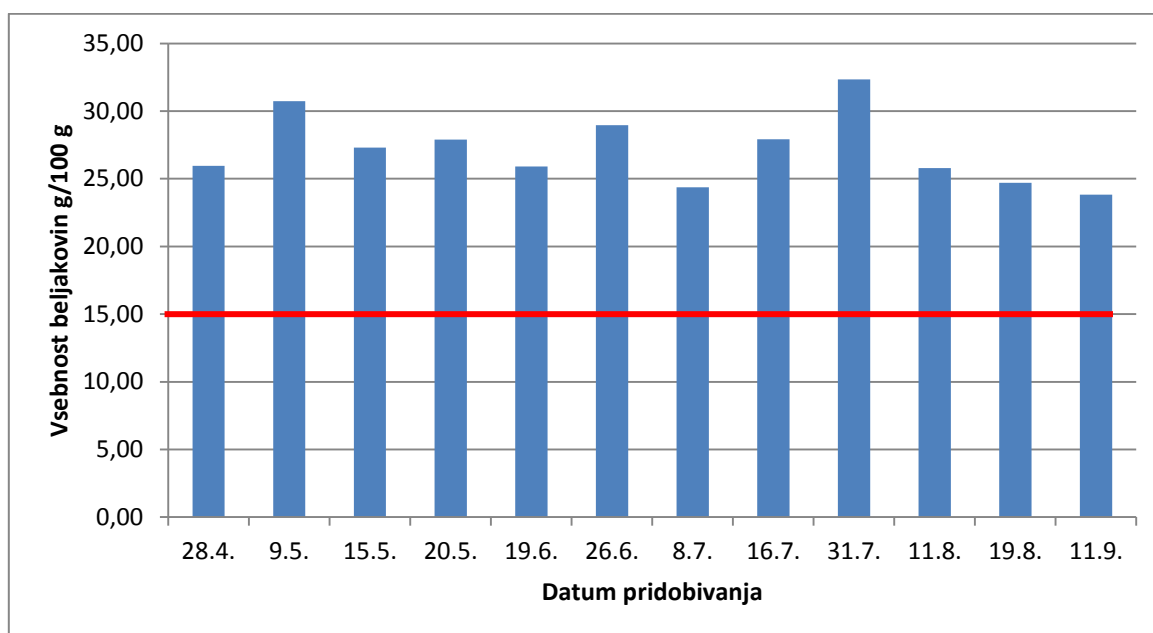
## 4.2 Kemijska sestava cvetnega prahu

**Tabela 3** Kemijska sestava cvetnega prahu v letu 2014 pridobljenega v Hoferjevem čebelnjaku. V obrazložitvah so predstavljene vrednosti na suho težo cvetnega prahu.

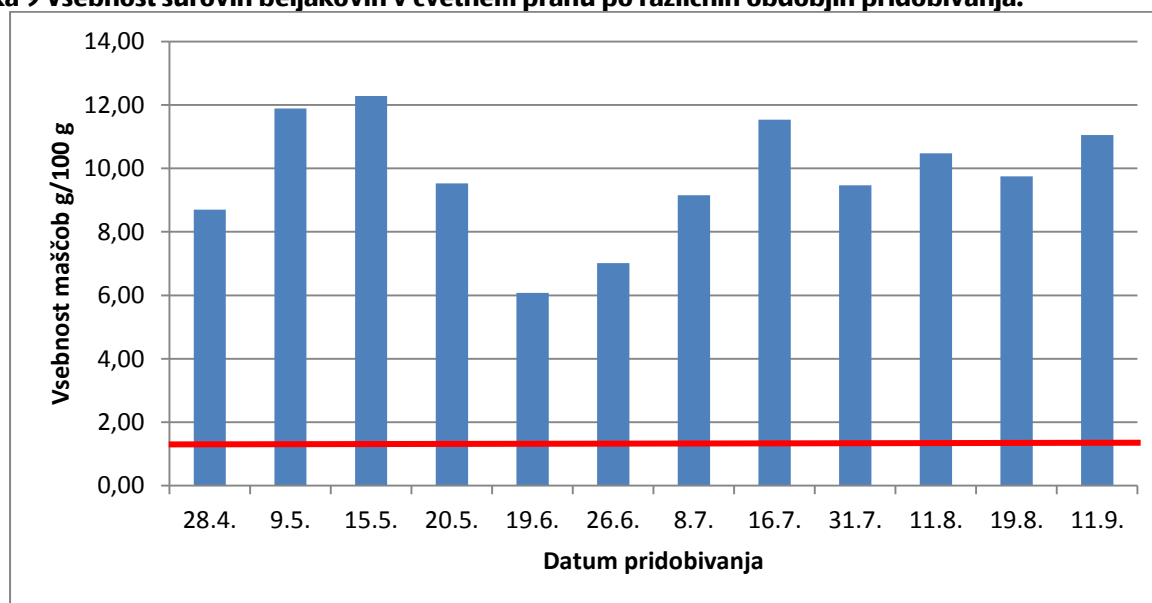
Parameter	n	Sveža teža				Suha teža			
		Povprečje	Min	Max	SD (±)	Povprečje	Min	Max	SD (±)
<b>Vsebnost vode g/100 g</b>	12	25,7	23,1	29,2	1,92	-	-	-	-
<b>Vsebnost beljakovin g/100 g</b>	12	20,2	18,1	22,9	1,64	27,1	23,8	32,3	2,59
<b>vsebnost maščob g/100 g</b>	12	7,2	4,5	8,9	1,41	9,7	6,1	12,3	1,88
<b>Vsebnost pepela g/100 g</b>	12	2,0	1,6	2,4	0,21	2,7	2,2	3,1	0,25
<b>Vsebnost ogljikovih hidratov g/100 g</b>	12	45,0	39,3	48,5	10,72	60,4	54,8	65,4	3,37
<b>Energijska vrednost kj/100 g</b>	12	1367,6	1297,7	1433,4	45,04	1839,6	1763,8	1894,5	38,82

Skupna vsebnost surovih beljakovin v cvetnem prahu, nabranem v časovnem obdobju od 28.4.2014 do 11.9.2014, se je gibala med vrednostmi 23,8 in 32,3 g/100 g, s povprečno vrednostjo 27,1 g/100 g. Glede na predlog mednarodne standardizacije kakovosti za posušen cvetni prah, podan na predlog Camposove in sod. (2008), naj bi posušen cvetni prah za uporabo v človeški prehrani vseboval vsaj 15,0 g/100 g surovih beljakovin. Glede na rezultate vsebnosti surovih beljakovin v Hoferjevem čebelnjaku tako povprečna kot tudi minimalna vrednost surovih beljakovin ustreza predlaganemu normativu glede vsebnosti beljakovin v cvetnem prahu. Na sliki 9 so vrednosti med termini pobiranja cvetnega prahu ponazorjene tudi grafično.



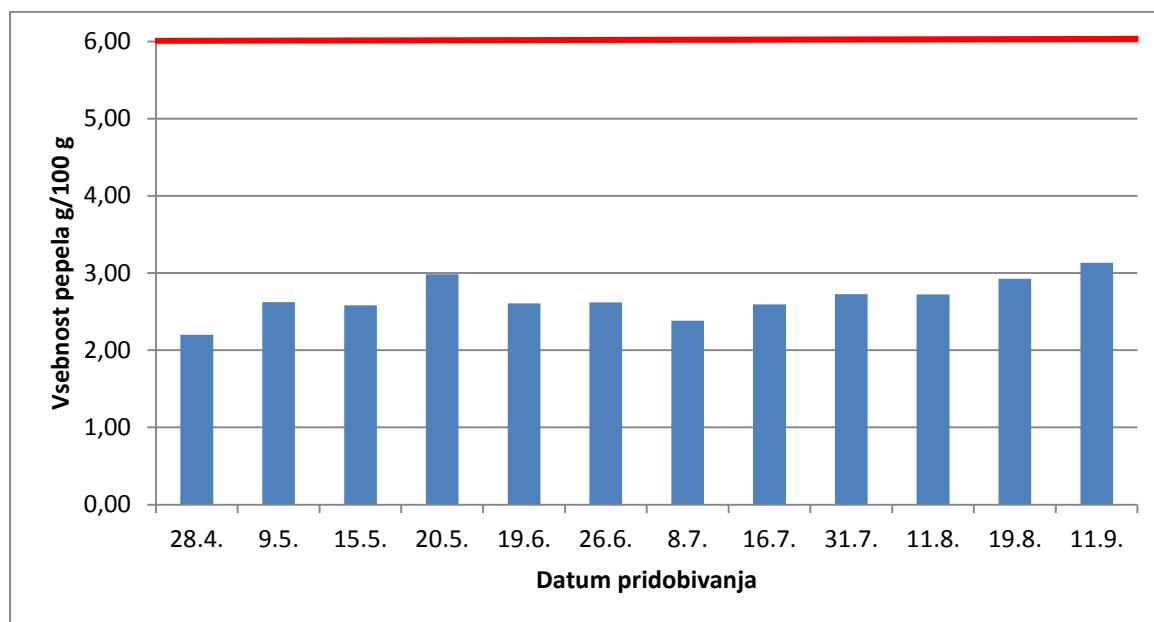


**Slika 9 Vsebnost surovih beljakovin v cvetnem prahu po različnih obdobjih pridobivanja.**



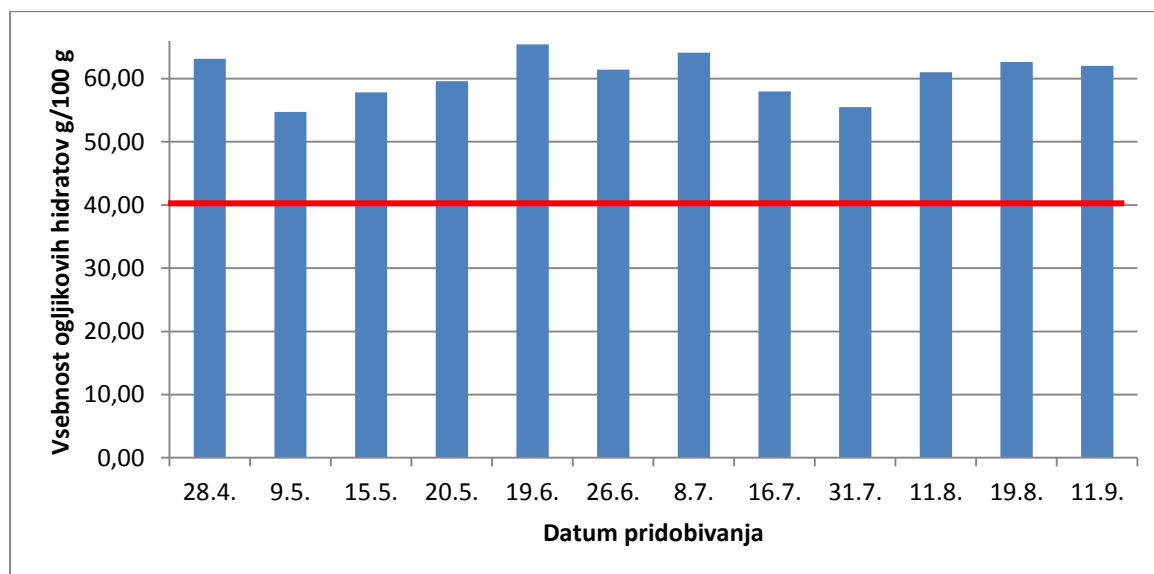
**Slika 10 Vsebnost maščob v cvetnem prahu po različnih obdobjih pridobivanja.**

Vsebnost maščob v cvetnem prahu je bila v povprečju 9,7 g/100 g. Sicer pa so se vrednosti gibale med 6,1 in 12,3 g/100 g. Glede na predlog mednarodne standardizacije za kakovost posušenega cvetnega prahu le-ta naj ne bi vseboval manj kot 1,5 g/100 g maščob. Vrednosti v analiziranem cvetnem prahu so bile znatno višje od tega predloga, zaradi česar je cvetni prah predlogu standardizacije kakovosti tudi ustrezal. Rahlo znižanje vrednosti vsebnosti maščob se je začelo kazati v mesecu juniju (slika 10).



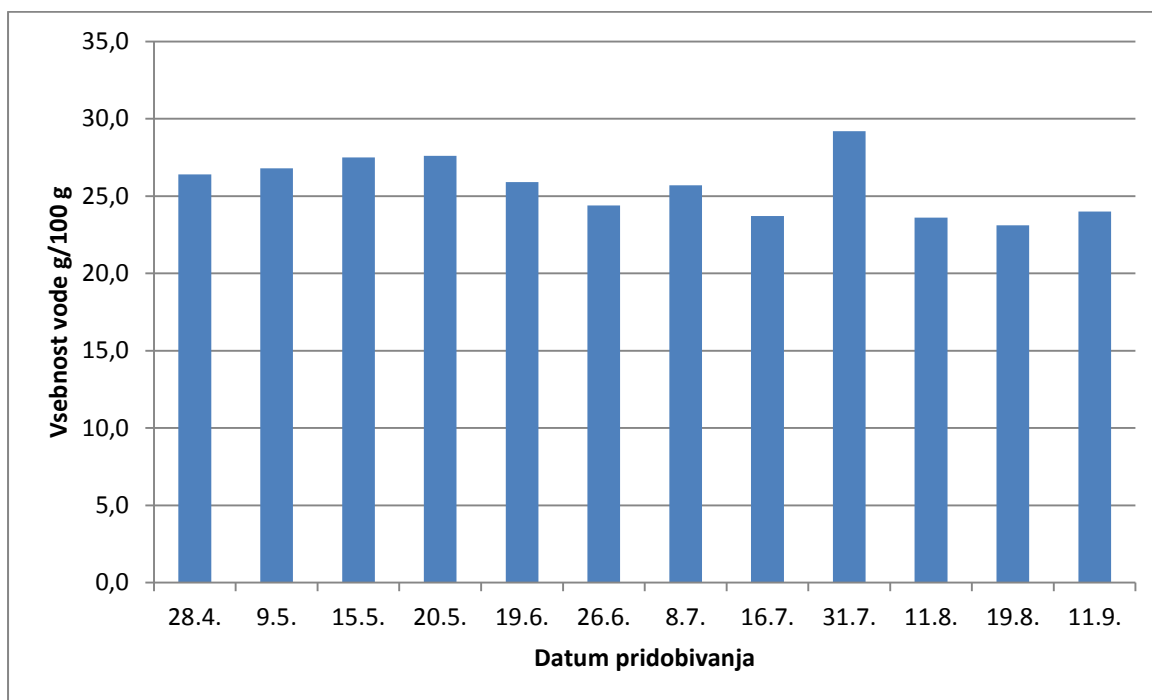
Slika 11 Vsebnost pepela v cvetnem prahu po različnih časovnih obdobjih pridobivanja.

Vsebnost pepela, po mednarodnem predlogu standardizacije za posušen cvetni prah naj ne bi bila višja od 6 g/100 g. V analiziranih vzorcih cvetnega prahu nobeden vzorec te vrednosti ni presegel. V povprečju so vzorci cvetnega prahu vsebovali 2,7 g/100 g pepela, vrednosti pa so se gibale med 2,2 in 3,1 g/100 g pepela, kar je več kot za polovico nižje od predlaganega normativa (slika 11).



Slika 12 Vsebnost ogljikovih hidratov v cvetnem prahu po različnih obdobjih pridobivanja.

Vsebnost ogljikovih hidratov je bila v cvetnem prahu v povprečju 60,4 g/100 g. Vrednosti v vseh analiziranih vzorcih pa so se gibale med 54,8 in 65,4 g/100 g. Glede na predlagan mednarodni kriterij za standardizacijo kakovosti posušenega cvetnega prahu v človeški prehrani naj le-ta ne bi vseboval manj kot 40 g/100 g ogljikovih hidratov. Prikaz vrednosti vsebnosti ogljikovih hidratov je predstavljen na sliki 12.



**Slika 13 Vsebnost vode v svežem cvetnem prahu po različnih obdobjih pridobivanja cvetnega prahu.**

Vsebnost vode se je v svežem cvetnem prahu gibala med 23,1 in 29,2 g/100 g, s povprečno vrednostjo 25,7 g/100 g. Glede na visok odstotek vode je cvetni prah mikrobiološko zelo občutljivo živilo, še posebej če se nahaja v svežem stanju. V takšnem primeru je nujen postopek shranjevanja cvetnega prahu v zamrzovalniku. V primeru, da cvetni prah posušimo, pa se ga lahko shranjuje na hladnem, temnem in suhem mestu. Vrednosti vsebnosti vode v cvetnem prahu so prikazane na sliki 13.

Cvetni prah je tudi dober vir energije. Energijska vrednost cvetnega prahu je bila v povprečju 1839,6 kJ/100 g. Energijska vrednost cvetnega prahu se je gibala med 1763,8 in 1894,5 kJ/100 g.

Statistična analiza je pokazala, da so med vzorci cvetnega prahu razlike, in sicer med obdobji (meseci) pridobivanja. Razlike, ki so statistično značilno dokazljive, so nastale pri vsebnosti maščob v cvetnem prahu in energijski vrednosti cvetnega prahu. Vzorci, pridobljeni v mesecu juniju, se statistično značilno razlikujejo od vzorcev, pridobljenih v maju, juliju in avgustu, v vsebnosti maščob in izračunani energijski vrednosti.

#### 4.3 Ostanke pesticidov v cvetnem prahu

Cvetni prah za potrebe analiz ostankov FFS je bil vzorčen glede na analizo tveganja v tistih časovnih obdobjih, ko se v naravi izvajajo različna tretiranja rastlin z zaščitnimi sredstvi in je pojavnost ostankov pesticidov lahko zelo verjetna, saj čebele cvetni prah nabirajo na cvetovih različnih rastlin. Termini pridobivanja cvetnega prahu za analizo na vsebnost ostankov FFS so bili 28.4., 9.5., 20.5., 11.8., 11.9. V vseh analiziranih vzorcih ni bilo zaznati nobenih ostankov sredstev pesticidov.



#### **4.4 Ostanki policikličnih aromatskih ogljikovodikov (PAH)**

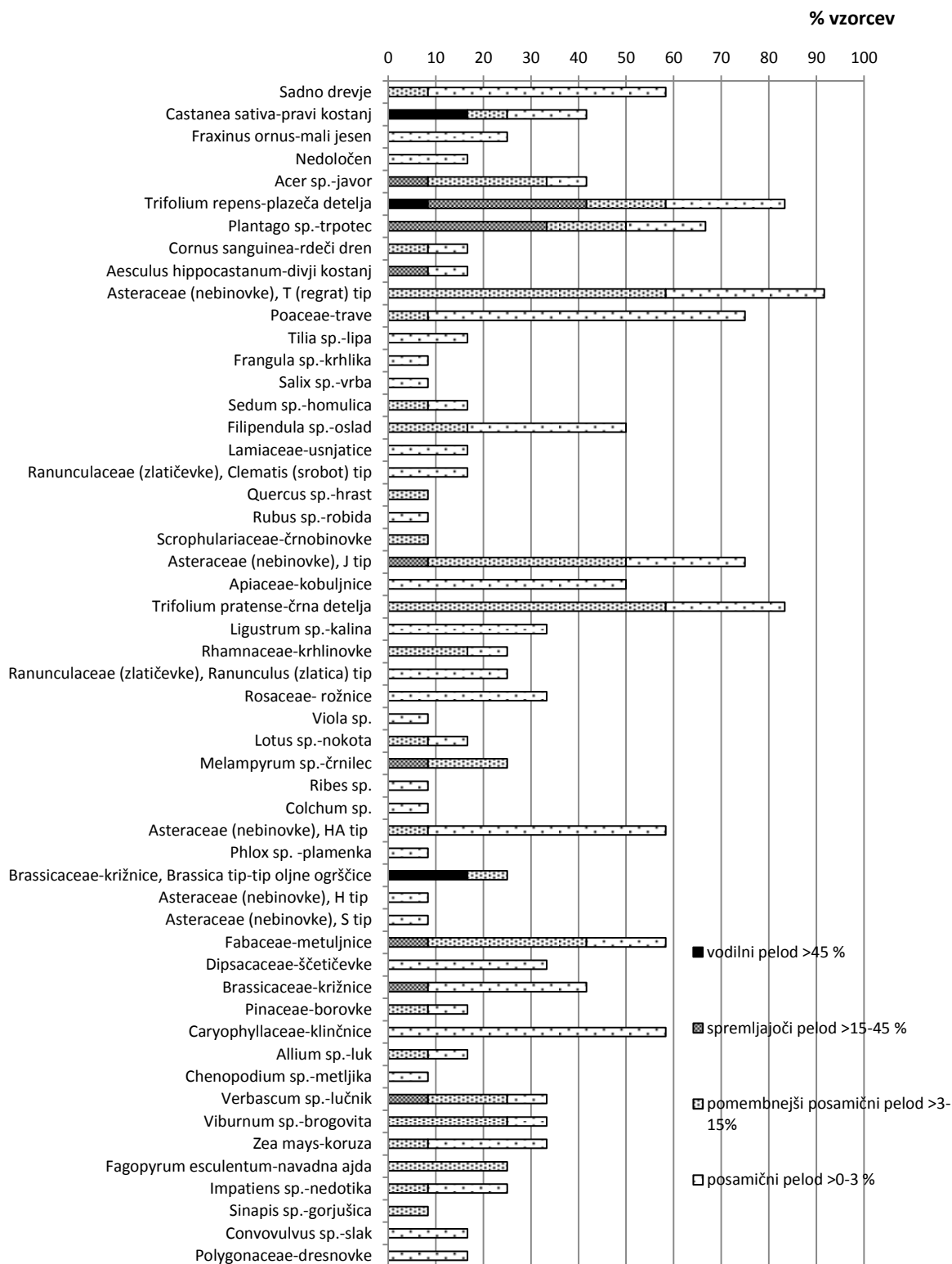
PAH-i predstavljajo vsoto fluoranzena, benzo(a)pirena, benzo(b)fluorantena, benzo(k)fluorantena, benzo(g, h, i)perilena in indeno(1,2,3-c)pirena. V vseh vzorcih svežega cvetnega prahu (12), pridobljenih v različnih obdobjih čebelarske sezone, je bila vsebnost PAH-ov pod mejo detekcije aparature (<0,05 mg/kg).

#### **4.5 Ostanki polikloriranih bifenilov (PCB)**

PCB-ji predstavljajo vsoto PCB 28, 52, 101, 138, 153 in 180. V vseh vzorcih svežega cvetnega prahu (12), pridobljenega v čebelarski sezoni 2014, je bila vsebnost PCB-jev pod mejo detekcije aparature (<0,05 mg/kg).

#### 4.6 Mikroskopska identifikacija cvetnega prahu

Tabela 4 Odstotek cvetnega prahu določene botanične vrste v vzorcih cvetnega prahu.



## 4.7 Težke kovine v cvetnem prahu

Tabela 5 Vsebnost težkih kovin v cvetnem prahu (sveža teža).

Vzorec	Parameter						
	Al	Cu	Zn	Cd	Co	Pb	Fe
1	130,00	8,69	36,90	0,17	0,08	0,42	55,40
2	10,27	8,00	23,69	<0,05	<0,05	0,12	43,65
3	22,40	8,07	35,90	0,05	0,05	0,25	51,10
4	23,24	7,70	23,80	0,05	0,05	0,11	56,99
5	84,10	8,19	55,70	0,13	0,46	0,32	154,00
6	20,41	9,85	29,96	0,07	0,16	0,13	82,22
7	57,20	15,90	37,90	0,11	0,05	0,18	80,90
8	50,10	14,20	40,70	0,06	0,06	0,22	90,30
9	17,59	8,63	29,54	<0,05	<0,05	0,17	72,00
10	12,19	9,67	26,41	<0,05	<0,05	0,08	53,43
11	22,40	7,01	24,30	<0,05	0,05	0,09	53,66
12	12,12	6,49	21,54	<0,05	<0,05	0,12	37,26
<b>Min</b>	<b>10,27</b>	<b>6,49</b>	<b>21,54</b>	<b>&lt;0,05</b>	<b>0,05</b>	<b>0,08</b>	<b>37,26</b>
<b>Max</b>	<b>130,00</b>	<b>15,90</b>	<b>55,70</b>	<b>0,17</b>	<b>0,46</b>	<b>0,42</b>	<b>154,00</b>
<b>Povprečje</b>	<b>38,50</b>	<b>9,37</b>	<b>32,20</b>	<b>0,09</b>	<b>0,12</b>	<b>0,18</b>	<b>69,24</b>
<b>SD (±)</b>	<b>36,48</b>	<b>2,84</b>	<b>9,80</b>	<b>0,05</b>	<b>0,14</b>	<b>0,10</b>	<b>31,31</b>
<b>Me</b>	<b>22,40</b>	<b>8,41</b>	<b>29,75</b>	<b>0,07</b>	<b>0,06</b>	<b>0,15</b>	<b>56,20</b>

Legenda: Al- aluminij, Cu- baker, Zn- cink, Cd- kadmij, Co- kobalt, Pb -svinec, Fe- železo.

Vsebnosti paladija (Pd), platine (Pt), rodija (Rh), srebra (Ag) in zlata (Au) so bile pod mejo detekcije aparature (<1,0; <0,10; <5,0; <0,05; <0,05). Vsebnost aluminija (Al) se je gibala v vrednostih med 10,27 in 130,00 mg/g. Povprečna vrednost vsebnosti Al je bila 38,50 mg/kg. Vsebnosti bakra (Cu) so se gibale v razponu od 6,49 do 15,90 mg/kg s povprečno vrednostjo 9,37 mg/kg. Vsebnost cinka (Zn) se je v cvetnem prahu gibala med vrednostmi 21,54 in 55,70 mg/kg, s povprečno vrednostjo 32,20 mg/kg. V raziskavi iz leta 2008 (Šešerko, 2008) je bila v cvetnem prahu – izkopancu iz bližnje okolice trenutnega stojišča čebelnjaka zaznana vsebnost Zn v povprečju 37,9 mg/kg.

Prisotnost kadmija (Cd) je največkrat posledica sežiganja (železarstvo, velike kurilne naprave). Vsebnost Cd v vzorcih cvetnega prahu je bila v povprečju 0,09 mg/kg z najvišjo vrednostjo 0,17 mg/kg, ki je bila zaznana v mesecu aprilu. Onesnaženje s svincem (Pb) izvira iz prometa, tako cestnega kot tudi letalskega. Pb se na rastline odloži z zračnim depozitom, saj je v rastlini na splošno slabo mobilien. Koncentracije Pb so se po uvedbi avtomobilskih katalizatorjev precej zmanjšale (Šešerko, 2008). Vsebnost Pb je bila v vzorcih cvetnega prahu med 0,08 in 0,42 mg/kg. V povprečju je bila vrednost vsebnosti Pb 0,18 mg/kg.

V raziskavi iz leta 2008 poroča Šešerko (2008), da je bila vsebnost Cd v cvetnem prahu – izkopancu iz neposredne bližine lokacije našega vzorčenja 0,09 mg/kg, kar se ujema z našo povprečno vsebnostjo

Cd v cvetnem prahu. Šešerko (2008) ravno tako poroča o vsebnosti Pb v cvetnem prahu – izkopancu, ki je bila 0,14 mg/kg in je ravno tako primerljiva z našimi rezultati.

Vsebnost kobalta (Co) je bila v povprečju 0,12 mg/kg. Viri železa (Fe) so lahko naravni ali pa prav tako izhajajo iz dejavnosti. Vsebnost Fe v cvetnem prahu se je gibala med 37,26 in 154 mg/kg, s povprečno vrednostjo 69,24 mg/kg. Omejitev glede vsebnosti težkih kovin v cvetnem prahu zaenkrat še ni. Dobljeni podatki pa lahko služijo pri spremljanju trenda stanja okolja glede prisotnosti težkih kovin.

#### 4.8 Določanje aminokislinske sestave cvetnega prahu

**Tabela 6 Vsebnost prostega Tyr in Trp v cvetnem prahu določenih botaničnih vrst (sveža teža).**

Botanična družina/vrsta	Tirozin (mg/g)	SD	Triptofan (mg/g)	SD	Zastopanost cvetnega prahu navedenega botaničnega izvora (%)
Brassicaceae- tip oljne ogrščice	0.280	±0.02	0.158	±0.01	87
<i>Fygopyrum esculentum - ajda</i>	0.441	±0.20	0.097	±0.04	87
Asteraceae -HA tip-nebinovke	0.364	±0.14	0.028	±0.004	93
<i>Trifolium pratense- črna detelja</i>	0.188	±0.005	0.040	±0.01	93

Trp je esencialna aminokislina v človeški prehrani, kar pomeni, da je naše telo ne more sintetizirati samo, ampak jo moramo vnesti v naše telo s hrano. Monoflorne vrste cvetnega prahu, ki smo jih barvno ločili in botanično identificirali, so vsebovale različno vsebnost Tyr in Trp. Večje razlike med posameznimi botaničnimi viri so se pokazale predvsem pri aminokislini Trp, saj se med družino Brassicaceae in Asteraceae –HA tip vsebnost Trp razlikuje za faktor 6. Prisotnost določene botanične vrste je bila v vseh primerih večja od 80 %, kar smo glede na reference Camposove in sod. (2008) upoštevali kot monoflorni cvetni prah.

Glede na do sedaj dobljene rezultate bi v prihodnje lahko oblikovali bazo vsebnosti določenih aminokislin v cvetnem prahu določene botanične vrste. Določali smo proste aminokislino, ker so le-te našemu telesu takoj izkoristljive. Če bi želeli ugotoviti skupno vrednost vseh aminokislin v cvetnem prahu, pa bi morali v obzir vzeti tudi aminokislino, ki se v cvetnem prahu nahajajo v vezani obliki. Poznavanje vsebnosti prostih aminokislin nam da lahko prvo informacijo o vsebnostih določene aminokislino v cvetnem prahu in glede na rezultate bi bilo mogoče v prihodnje ekonomsko koristno za čebelarje tudi cvetni prah ločevati po barvah ali izkoriščati določene paše, kjer čebele lahko naberejo predvsem enovrstni cvetni prah. Seveda je takšen cvetni prah bolj enakomerne sestave in se bi posledično lahko oblikovale smernice glede uživanja določnega cvetnega prahu za posebne prehranske potrebe. Kot hrana za čebele pa je seveda še vedno boljši mešani cvetni prah, četudi ravno slab. Tako kot pri ljudeh se tudi pri čebelah mora zagotoviti raznovrstna hrana.



## **5 RAZPRAVA IN ZAKLJUČKI**

Izsledki raziskave kažejo, da botanična raznolikost posledično vpliva tudi na razlike v sami kemijski sestavi cvetnega prahu glede na čas pridobivanja. V Sloveniji čebelarji pridobivajo botanično raznovrsten cvetni prah. Kot takšen je bil tudi predmet naše raziskave, razen v primerih, kjer smo detektirali aminokislino v posameznih botaničnih vrstah. Glede na iz literature povzete normative, ki se naj bi v prihodnosti uveljavili kot kakovostni kriteriji za posušen cvetni prah, ki se lahko uporablja v prehrani ljudi, lahko rečemo, da cvetni prah, pridobljen v letu 2014, na lokaciji stojišča HOFER ustreza predlaganim normativom v celoti (z izjemo vsebnosti vode, ki je v to primerjavo nismo vključili, saj smo analize opravljali na svežem cvetnem prahu, iz katerega smo nato preračunali suho snov).

Lokacija stojišča čebelnjaka je glede namembnosti površin zelo raznolika. V cvetnem prahu niso bile zaznane vsebnosti PAH-ov in PCB-jev, ki izvirajo večinoma iz prometa. Cvetni prah in tudi ostali čebelji pridelki na splošno niso uvrščeni na seznam živil, za katere so na podlagi Uredbe komisije (ES) št. 1881/2006 o določitvi mejnih vrednosti nekaterih onesnaževal v živilih postavljene najvišje dovoljene vsebnosti onesnaževal v živilih. Tudi ostankov pesticidov, ki največkrat izvirajo iz kmetijstva in vrtnarjenja, nismo zasledili v nobenem vzorcu cvetnega prahu.

Glede določanja kakovostnih parametrov in ustvarjanje baze podatkov o kemijskih lastnostih cvetnega prahu iz Slovenije smo z izvedenimi analizami prispevali k boljšemu poznavanju cvetnega prahu – osmukanca kot pridelka. Da bi z gotovostjo lahko govorili o posebnostih določene botanične vrste, pa bodo potrebne še nadaljnje analize na več področjih, od ugotavljanja aminokislinske sestave, fenolnih spojin, vitaminov, itd. Nedvomno pa za začetek nadaljnjega raziskovalnega dela na tem področju velja velik doprinos pri poznavanju kemijske sestave cvetnega prahu, pridobljenega na tem območju. Tudi rezultati vpliva okolja so dali pomembne podatke, ki nakazujejo na kakovost čebelarjenja in bivanja na tem območju.





## **6 SKLEPI**

Pri terenskem popisu rastlin, ki rastejo v okolici čebelnjaka v cca. 3km polmeru, smo zabeležili 84 različnih botaničnih vrst. Pri pelodni analizi cvetnega prahu pa smo v vzorcih zaznali pelod 53 različnih botaničnih vrst.

Vsi vzorci cvetnega prahu so ustrezali predlaganemu kriteriju za kakovost posušenega cvetnega prahu, ki se uporablja v prehrani ljudi.

Vsebnost esencialne aminokislina Trp se med posameznimi botaničnimi vrstami cvetnega prahu zelo razlikuje, kar nakazuje, da so lahko določene vrste cvetnega prahu v prehrani ljudi koristnejše.

V nobenem analiziranem vzorcu cvetnega prahu ni bilo zaznanih ostankov pesticidov. Ravno tako ni bilo zaznanih PAH-jev in PCB-jev (promet).

Vrednosti analiz na težke kovine se v vzorcih cvetnega prahu med posameznimi obdobji pridobivanja razlikujejo. Najvišje dovoljene mejne vrednosti za vsebnost težkih kovin v cvetnem prahu pa za zdaj še niso določene.

Poudariti je potrebno, da gre za enoletno raziskavo, zaradi česar lahko govorimo le o tem, kaj rezultati nakazujejo in nikakor ne o zaključkih. Da bi dejansko lahko govorili o zaključkih, bi bilo potrebno v prihodnje v raziskavo vključiti večje število vzorcev iz tega območja in večletno spremljanje stanja.



## **7 ZAHVALA**

Zahvala podjetju HOFER trgovina d.o.o. za finančno podporo pri izvedbi analiz, saj s tem kaže prizadevnost za ohranjanje okolja in čebelarske dejavnosti ter stremi k izboljšanju in napredku na tem področju.



## 8 REFERENCE

- Kandolf, A. in sod. 2008. Cvetni prah. V: O cvetnem prahu. Kandolf, A. (ur.). Čebelarska Zveza Slovenije: 5-11
- Bogdanov, S. 2012. The Bee Pollen Book. Chapter 1. [www.bee-hexagon.net](http://www.bee-hexagon.net) 1-13
- Campos, M. in sod. 2008. Pollen composition and standardization of analytical methods. Journal of Apicultural Research and Bee World (47) 2: 156-163
- Brodtschneider, R., Crailsheim, K. 2010. Nutrition and health in honey bees. Apidologie 41 (2010) : 278-294
- Herbert, E. W, Shimaniku, H. 1978. Chemical composition and nutritive value of bee collected and bee stored pollen. Apidologie 9 (1): 33-40
- Fernandes da Silva, P., Serrao, J.E. 2000. Nutritive value and apparent digestibility of bee-collected and bee-stored pollen in the stingless bee, *Scaptotrigona postica* Latr. (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). Apidologie 31: 39-45
- Uredbe komisije (ES) št. 1881/2006 o določitvi mejnih vrednosti nekaterih onesnaževal v živilih.
- Solberg, Y., Remedios, G. 1980. Chemical composition of pure and bee-collected pollen. Scientific reports Agriculture University, Norway, 59, 18: 2-12
- Bell, R.R., Thornber, E.J., Seet, J.L.L., Grovec, M.T., Ho, N.P., Bell, D.T. 1983. Composition and protein quality of honey-bee-collected pollen of *Eucalyptus marginata* and *Eucalyptus calophylla*. Journal of Nutrition, 113, 12: 2479-2484
- Talpay, B. M. 1984. Der pollen. Versuch einer Standortbestimmung. Institut für Honigforschung Bremen: 1-84
- Szczesna, T., Rybak-Chmielewska, H., Skowronek, W. 1995. Alterations in the chemical composition of the pollen loads stored under various conditions. I. Sugars, fat and ash. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe, 40: 145-156
- Szczesna, T., Rybak-Chmielewska, H. 1998. Some properties of honey bee collected pollen. In Polnisch-Deutsches Symposium *Salus Apis mellifera*, new demands for honey bee breeding in the 21 st century. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe, 42, 2: 79-80
- Almeida-Muradian, L.B., Pamplona, L.C., Coimbra, S., Barth, O.M. 2005. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. Journal of Food Composition and Analysis, 18, 1: 105-111



- Soares de Arruda, V.A., Santos Pereira, A.A., Silva de Freitas, A., Marth, M.O., Almeida-Muradian, L.B. 2013. Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical composition. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29: 100-105
- Pernal, S.F., Currie, R.W. 2000. Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, 31: 387-409
- Cook, S.M., Awmack, C.S., Murray, D.A., Williams, I.H. 2003. Are honeybees foraging preferences affected by pollen amino acid composition? *Ecological Entomology*, 28: 622-627
- Roulstone, T. H. 2000. Pollen nutritional content and digestibility for animals. *Plant Systematics and Evolution* 222, 1-4: 187-209
- Roulston, T.H., Cane, J.H. 2000. Pollen nutritional content and digestibility for animals. *Plant Systematics and Evolution*, 222: 187-209
- Human, H., Nicolson, S.W. 2006. Nutritional content of fresh bee-collected and stored pollen of *Aloe greatheadii* var. *davyana* (Asphodelaceae). *Phytochemistry*, 67: 1486-1492
- Carpes, S.T., Mourao, G.B., de Alencar, S.M., Masson, M. L. 2009. Chemical composition and free radical scavenging activity of *Apis mellifera* bee pollen from Southern Brazil. *Brazilian Journal of Food Tehnology*, 12, 3: 220-229
- Feas, X., Pilar Vazquez-Tato, M., Estevinho, L., Seijas, J.A., Iglesias, A. 2012. Organic bee pollen: Botanical origin, nutritional value, bioactive compounds, antioxidant activity and microbiological quality. *Molecules*, 17: 8359-8377
- Estevinho, L.M., Rodrigues, S., Pereira, A.P., Feas, X. 2012. Portuguese bee pollen: palynological study, nutritional and microbiological evaluation. *International Journal of Food Science and Technology*, 47: 429-435
- Yang, K., Wu, D., Ye, X., Liu, D., Chen, J., Sun, P. 2013. Characterization of chemical composition of bee pollen in China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 708-718
- De Grot, A.P. 1953. Protein and amino acid requirements of the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Comparative Physiology Oecologica*, 3: 1-83
- Stanley, R.G., Linskens, H.F. 1974. *Pollen: Biology, Biochemistry, Management*. Springer, New York
- Vanderplanck, M., Leroy, B., Wathélet, B., Wattiez, R., Michez, D. 2013. Standardized protocol to evaluate pollen polypeptides as bee food source. *Apidologie*, INRA, DIB and Springer-Verlag France, 2013, Published online 02 October 2013
- Weiner, CN., Hilpert, A., Werner, M., Linsenmair, KE, Blüthgen, N. 2010. Pollen amino acids and flower specialisation in solitary bees. *Apidologie* 41 (2010): 478-487



Gonzales Paramas, AM., Gomez Barez, JA., Cardon Marcos, C., Garcia-Villanova, RJ., Sanchez, JS. 2006. HPLC-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee-pollen). *Food Chemistry* 95 (2006): 148-156

Zang, J., Xue, X., Zhou, J, Chen, F., Wu, L., Li, Y, Zhao, J. 2009. Determination of tryptophan in bee pollen and royal jelly by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Biomed. Chromatography* 2009; 23: 994-998

Božnar, M. in sod. 2011. Slovensko čebelarstvo v tretje tisočletje. V: *Cvetni prah*. Zdešar, P. (ur.). Čebelarstva Zveza Slovenije: 324 -333

Morgano, M. A., Milani, R.F., Martins, M.C.T., Rodriguez-Amaya, D.B. 2011. Determination of water content in Brazilian honeybee-collected pollen by Karl Fischer titration. *Food Control*, 22: 1604-1608

Gergen, I., Radu, F., Bordean, D., Isengard, H.D. 2006. Determination of water content in bee pollen samples by Karl Fischer titration. *Food Control* 17, 3: 176-179

Bogdanov, S. 2006. Contaminants of bee products. *Apidologie* 37, 1-18.

Pryzbylowski, P. 2003. The accumulation of trace metals and pesticides in honey. *Proceedings of the XXXVIII Congress Apimondia, Ljubljana 2003*.

Bortolotti, L., Sabatini, A. G., Girotti, S., Ghini, S., Grillenzoni, F., Gattavecchia, E., Celli, G., Porrini, C., Medrzycki, P. 2003. Honey bees as bioindicators of the environmental pollution. *Proceedings of the XXXVIII Congress Apimondia, Ljubljana 2003*.

Chauzat, M. P., Faucon, J. P., Martel, A. C., Lachaize, J. Cougoule, N., Aubert, M. 2006. A survey of pesticide residues in pollen loads collected by honey bee in France. *J. Econ. Entomol.* 99 (2): 253-262.

Šešerko, M. in sod. (2008). *raziskave polutantov v čebeljih pridelkih*. Agencija RS za kmetijske trge in razvoj podeželja.



## DRUGE AKTIVNOSTI POVEZANE S ČEBELNJAKOM HOFER

### TEČAJI ZA ČEBELARJE ZAČETNIKE

V čebelnjaku HOFER je potekalo tudi izobraževanje čebelarjev začetnikov in čebelarskih mojstrov.

Čebelarji začetniki so tako v praksi spoznavali osnove dela s čebelami, se lotili spomladanskih opravil in pregleda čebeljih družin ter si demonstrativno ogledali in se podučili tudi o postopkih pridelave medu. Takšnih delavnic je bilo v letu 2014 kar 5. Število udeležencev pa 150. V nadaljevanju prilagamo tabelo poteka izobraževanj.

Št.	Dan	Datum	Trajanje	Šolskih ur (50 min)	Skupina	Tema	Izvajalec
1.	petek	16. maj.*	14.00-18.30	5	<b>1. skupina A-Jakše</b>	PRAKSA: Spomladanska opravila	Milan Meglič
2.	sobota	17. maj.*	8.00-12.20	5	<b>2. skupina Kerin-Pirš</b>	PRAKSA: Spomladanska opravila	Franc Prezelj
3.	sobota	17. maj.*	13.15-17.45	5	<b>3. skupina Podbevšek-Ž</b>	PRAKSA: Spomladanska opravila	Franc Prezelj
4.	petek	13. jun*	16.00-17.40	2	<b>3. skupina Podbevšek-Ž</b>	PRAKSA: Pridelava medu – Pobiranje satja iz panja, prikaz točenja medu, polnjenje	Milan Meglič
5.	sobota	14. jun*	8.00-9.40	2	<b>2. skupina Kerin-Pirš</b>	PRAKSA: Pridelava medu – Pobiranje satja iz panja, prikaz točenja medu, polnjenje	Milan Meglič
6.	sobota	14. jun*	12.40-14.20	2	<b>1. skupina A-Jakše</b>	PRAKSA: Pridelava medu – Pobiranje satja iz panja, prikaz točenja medu, polnjenje	Milan Meglič

## **TEČAJI ZA ČEBELARSKE MOJSTRE**

V prostorih Čebelarске zveze Slovenije je pred izpitno komisijo dokazovalo svoje mojstrske spretnosti in znanje s področja čebelarstva pet kandidatov, ter si na koncu zasluţeno pridobilo naziv čebelarski mojster. Novi čebelarski mojstri so postali: Boštjan Kojek, Barbara Kojek Prelesnik, Samo Orel, Stanislav Mazej in Jernej Majcen. Predsednik izpitnega odbora je bil dr. Janko Boţič, njegova člana pa sta bila v zadnjem delu izpitov še dr. Peter Kozmus in čebelarski mojster Danijel Šavli. V nadaljevanju fotografija preverjanja praktičnega znanja v čebelnjaku HOFER.

