

Fizikalno-kemijske karakteristike pčelinje peludi različitog botaničkog podrijetla

Sučić, Mia

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:604898>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-23**

REPOZITORIJ

PTF OS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

Mia Sučić

**FIZIKALNO-KEMIJSKE KARAKTERISTIKE PČELINJE PELUDI RAZLIČITOG
BOTANIČKOG PODRIJETLA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan 2020.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za ispitivanje hrane i prehrane
Katedra za kakvoću hrane
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Znanost o hrani i nutricionizam**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija**Nastavni predmet:** Kontrola kakvoće hrane**Tema rada** je prihvaćena na IX. izvanrednoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2018./2019. održanoj 13. rujna 2019. godine.**Mentor:** izv. prof. dr. sc. *Ivana Flanjak***Pomoć pri izradi:** dr. sc. *Blanka Bilić Rajs***Fizikalno-kemijske karakteristike pčelinje peludi različitog botaničkog podrijetla**

Mia Sučić, 0113140390

Sažetak:

Pčelinja pelud je proizvod koji se sve češće konzumira zbog visoko vrijednog nutritivnog sastava. Kemijski sastav peludi najvećim dijelom ovisi o vrsti biljke sa koje pčele prikupe peludna zrnca, ali utjecaj imaju i klimatski uvjeti, tip tla te skupljačka aktivnost pčelinje zajednice. Kako bi se utvrdio kemijski sastav pčelinje peludi prikupljeno je 16 skupnih uzoraka pčelinje peludi s 3 lokacije u Republici Hrvatskoj koji su razvrstani prema botaničkom podrijetlu te su u uzorcima, i skupnim i monofloornim, određeni udio vode, bjelančevina, mineralnih tvari, ukupnih masti te sastav i udio ugljikohidrata. Dobiveni rezultati prvi su podaci o fizikalno-kemijskim karakteristikama hrvatske pčelinje peludi, a vrijednosti se razlikuju ovisno o botaničkom podrijetlu uzoraka pčelinje peludi.

Ključne riječi: pčelinja pelud, botaničko podrijetlo, fizikalno-kemijske karakteristike**Rad sadrži:** 40 stranica
3 slike
15 tablica
0 priloga
23 literaturne reference**Jezik izvornika:** hrvatski**Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:**

- | | |
|--|---------------|
| 1. prof. dr. sc. <i>Ljiljana Primorac</i> | predsjednik |
| 2. izv. prof. dr. sc. <i>Ivana Flanjak</i> | član-mentor |
| 3. dr. sc. <i>Marin Kovačić</i> , znan. sur. (FAZOS) | član |
| 4. prof. dr. sc. <i>Ivica Strelec</i> | zamjena člana |

Datum obrane: 29. rujna 2020.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Food and Nutrition Research
Subdepartment of Food Quality
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program Food Science and Nutrition

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Course title: Food Quality Control

Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. IX held on September 13, 2019.

Mentor: *Ivana Flanjak*, PhD, associate prof.

Technical assistance: *Blanka Bilić Rajs*, PhD

Physicochemical Characteristics of Bee Pollen of Different Botanical Origin

Mia Sučić, 0113140390

Summary:

Bee pollen is a product that is increasingly consumed due to its highly valuable nutritional composition. The chemical composition of pollen primarily depends on the type of plant from which the bees collect pollen grains, but climate conditions, soil type and the collecting activity of the bee colony also have an impact. In order to determine the chemical composition of bee pollen, 16 bee pollen samples were collected from 3 locations in the Republic of Croatia, which are classified according to botanical origin and the content of water, proteins, minerals, total fats and carbohydrate composition were determined in group and monofloral samples. The obtained results are the first data on the physicochemical characteristics of Croatian bee pollen, and the values differ depending on the botanical origin of bee pollen samples.

Key words: bee pollen, botanical origin, physicochemical characteristics

Thesis contains: 40 pages
3 figures
15 tables
0 supplements
23 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|--|--------------|
| 1. <i>Ljiljana Primorac</i> , PhD, prof. | chair person |
| 2. <i>Ivana Flanjak</i> , PhD, associate prof. | supervisor |
| 3. <i>Marin Kovačić</i> , PhD | member |
| 4. <i>Ivica Strelec</i> , PhD, prof. | stand-in |

Defense date: September 29, 2020

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

Zahvaljujem se svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Ivani Flanjak na usmjeravanju i stručnim savjetima kao i vremenu uloženom u izradu ovog diplomskog rada.

Zahvaljujem se svojim roditeljima koji su me tijekom cijelog mog školovanja poticali i motivirali, hvala Vam za ljubav i podršku koju ste mi nesebično davali!

Od srca hvala mom dečku, obitelji, rodbini i svim prijateljima koji su bili uz mene tijekom studiranja i koji su ga učinili zabavnijim i ljepšim.

Hvala Tebi što si me vodio tokom cijelog mog studiranja, što si mi bio utjeha i nada kad sam posustala!

Ovaj rad posvetila bih svome didi Miki koji mi je obećao priuštiti školovanje. Hvala ti što si uvijek vjerovao u mene, nadam se da si sada „gore“ ponosan!

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. PČELINJA PELUD.....	4
2.1.1. Metode skupljanja pčelinje peludi.....	4
2.1.2. Morfološka obilježja peludi	6
2.2. FIZIKALNO-KEMIJSKE KARAKTERISTIKE PČELINJE PELUDI	8
2.2.1. Voda.....	8
2.2.2. Ugljikohidrati	9
2.2.3. Proteini	9
2.2.4. Masti.....	10
2.2.5. Mineralne tvari	10
2.2.6. Vitamini	11
2.3. ZDRAVSTVNI ASPEKT UPOTREBE PČELINJE PELUDI	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO	14
3.1. ZADATAK.....	15
3.2. MATERIJALI I METODE	15
3.2.1. Uzorci pčelinje peludi	15
3.2.2. Peludna analiza.....	16
3.2.3. Određivanje vode sušenjem u vakuumu	17
3.2.4. Određivanje količine mineralnih tvari	17
3.2.5. Određivanje bjelančevina po Kjeldahl-u.....	18
3.2.6. Određivanje ukupnih masti po Soxhletu uz prethodnu digestiju	19
3.2.7. Određivanje ugljikohidrata visokotlačnom tekućinskom kromatografijom (HPLC).....	20
4. REZULTATI	21
5. RASPRAVA.....	31
6. ZAKLJUČCI	35
7. LITERATURA	37

1. UVOD

Pelud su muške spolne stanice biljaka koje se koriste za razmnožavanje, te sadrže sve potrebne komponente za razvoj novog života. Bogat je izvor proteina, masti, minerala, vitamina te ga pčele upravo zbog toga, uz med, koriste kao izvor esencijalnih nutrijenata (Campos i sur., 2008).

S obzirom da još uvijek nije u velikoj mjeri zastupljen u ljudskoj prehrani, na pčelinju pelud se gleda kao na funkcionalnu hranu ili dodatak prehrani. Posljednjih godina pčelinja pelud je postala predmet brojnih medicinskih i biokemijskih istraživanja zbog svojih antioksidativnih, antikancerogenih i protuupalnih učinaka (Mărgăoan i sur., 2019).

Najzastupljenije komponente pčelinje peludi su ugljikohidrati, od kojih glavninu čine monosaharidi, glukoza i fruktoza. Pčelinja pelud može biti bogata proteinima (do 40 %), a sadrži i sedamnaest od dvadeset aminokiselina. Bogata je nezasićenim masnim kiselinama (oko 70 % ukupnog udjela masti) zbog čega ima blagotvoran učinak i na kardiovaskularni sustav (Kieliszek i sur., 2018). Često se naziva „vitaminskom bombom“ radi velikog udjela vitamina. Iako udio ovisi o sezoni, u pčelinjoj peludi nalaze se vitamini A, C, E, vitamini B skupine te provitamin β -karoten (Campos i sur., 2008; Kieliszek i sur., 2018). Pčelinja pelud je dobar izvor makro i mikro elemenata koji su bitni za očuvanje zdravlja. Najzastupljeniji mineral u pčelinjoj peludi je kalij i čini 60 % ukupnog udjela minerala, a slijede ga magnezij, natrij i kalcij dok su u manjoj mjeri zastupljeni željezo, bakar, cink te mangan ovisno o botaničkom podrijetlu (Campos i sur., 2008; Liolios i sur., 2019).

Iako na kemijski sastav peludi najviše utječe vrsta biljke sa koje pčele prikupljaju peludna zrnca, svoj doprinos sastavu dat će i zemljopisno podrijetlo, sezona skupljanja, tip tla te sakupljačka aktivnost pčelinje zajednice.

Cilj ovog rada je odrediti kemijski sastav pčelinje peludi različitog botaničkog podrijetla kako bi se utvrdile specifičnosti ovisno o botaničkom podrijetlu monoflorne pčelinje peludi.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. PČELINJA PELUD

Općepoznato je da pčele (*Apis mellifera*) proizvode med koji se još od davnina koristi u svakodnevnoj ljudskoj prehrani. Osim meda, ove pčele proizvode i druge proizvode čiji se blagotvoran učinak na ljudsko zdravlje ne smije zanemariti. Jedan od takvih proizvoda upravo je i pčelinja pelud.

Pelud su muške spolne stanice koje se koriste za razmnožavanje, te sadrže sve potrebne komponente za razvoj novog života. Pčele med koriste kao glavni izvor energije, dok im pelud koristi kao izvor ostalih nutrijenata. Pčelinja pelud je izvor proteina, masti, minerala, ali i drugih nutrijenata poput vitamina (Campos i sur., 2008).

Campos i sur. (2010) pčelinju pelud definiraju kao hranu, no budući da je malo zastupljena u ljudskoj prehrani na nju se gleda kao na funkcionalnu hranu ili dodatak prehrani. Iako su još stari Egipćani pčelinju pelud opisivali kao "prašinu koja daje život", značajnija upotreba pčelinje peludi u ljudskoj prehrani javlja se u 19. stoljeću, pojavom peludnih hvatača. Posebnu pažnju medicine i biokemije pčelinja pelud je dobila kada je utvrđeno da sadrži brojne bioaktivne komponente koje su zaslužni za antioksidativni, antikancerogeni i protuupalni učinak. Koncentracija ovih bioaktivnih komponenti, ali i samih nutrijenata, ovisit će kako o vrsti biljke, tako i o njezinoj starosti, nutritivnoj vrijednosti, te okolišu u kojem biljka raste (Mărgăoan i sur., 2019).

2.1.1. Metode skupljanja pčelinje peludi

Pelud nastaje u peludnicama prašnika biljaka i predstavlja organ s muškim genetskim naslijeđem. Da bi se cvijet oplodio, pelud iz prašnika mora se prenijeti na tučak, ženski rasplodni organ. Većinom se biljke oprašuju pomoću vjetra, ali one koje su udaljene, oprašuju se uz pomoć pčela i drugih kukaca koje na svojim tijelima prenose značajne količine peludi.

Pelud skupljaju pčele specijalizirane za njegovo prikupljanje, ali ga u košnicu donose i radilice koje skupljaju nektar pa su tijekom njegova skupljanja, skupile i pelud na dlačicama po tijelu. Skupljenu pelud sa svoga tijela, pčele čiste prednjim i srednjim nogama, te prebacuju u peludnu košaru gdje pelud oblikuju u karakteristične kuglice (Campos i sur., 2008). Ovako upakiranu pelud donose u košnicu, gdje ju skidaju otresanjem nogu u stanice saća. Pčele koje

se nalaze unutar košnice potom prerađuju pelud koja poprima teksturu paste i koja se koristi za proizvodnju „pčelinjeg kruha“ koji mlade pčele koriste za rast i razvoj.

Postoji više vrsta skupljača peludi, ali je princip skupljanja kod svih prolazak kroz prepreku. Prepreka se može postaviti iznad podnice, zakvačiti na ulaz u košnicu ili postaviti između podišta (Levaković, 2014).

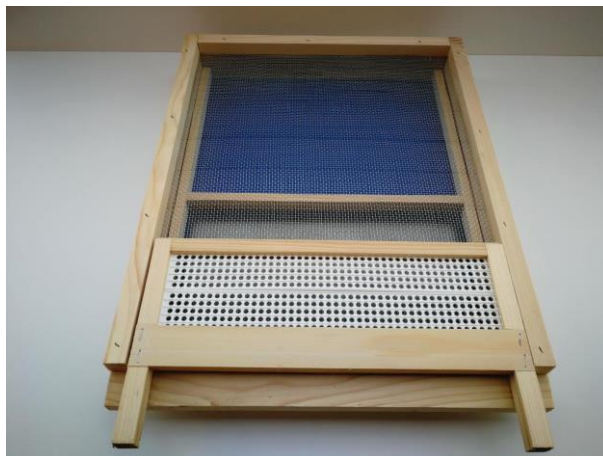
Skupljač na letu se postavlja ispred leta košnice u obliku kutije kroz koju je okomito provučena plastična perforirana ploča (**Slika 1**). Skupljač je širi od otvora i prijanja na prednju stjenku košnice, tako da pčele ne mogu ući u košnicu drukčije nego kroz prepreku. Nedostatak ovog skupljača predstavlja smanjeni pristup zraka u košnicu kada dođe do masovnog povratka sakupljačica u košnicu koje svojim tijelima zatvore otvore na sakupljaču. Osim toga, kako se ovaj tip skupljača nalazi izvan košnice, izložen je vanjskim utjecajima i potrebno ga je svakodnevno prazniti što može predstavljati problem ukoliko pčelinjak nije blizu mjesta stanovanja pčelara (Levaković, 2014).



Slika 1 Skupljač pčelinje peludi postavljen na leto košnice (Medno, 2016)

Skupljač koji se postavlja na podnicu sastoji se iz dva dijela, ploče ili mreže za skidanje i ladice u koju pada pelud. Ladica je istih dimenzija kao podnica na koju se postavlja ili je cjelokupna podnica izrađena za skupljanje pčelinje peludi. Perforirana ploča postavljena je u drvene vodice i lagano se vadi iz okvira skupljača. Ispod ploče nalazi se mreža s očicama kroz koju prolaze pčele koje ulaze i izlaze iz košnice (**Slika 2**). Ovim načinom riješeni su nedostatci

skupljača na letu, velika površina perforirane ploče ne smanjuje dotok zraka i pčelinja pelud je dobro zaštićena od vanjskih utjecaja, ali nedostatak ovakvog skupljača je što može doći do nakupljanja različitih nečistoća u ladici koje iz košnice padaju na dno (Levaković, 2014).

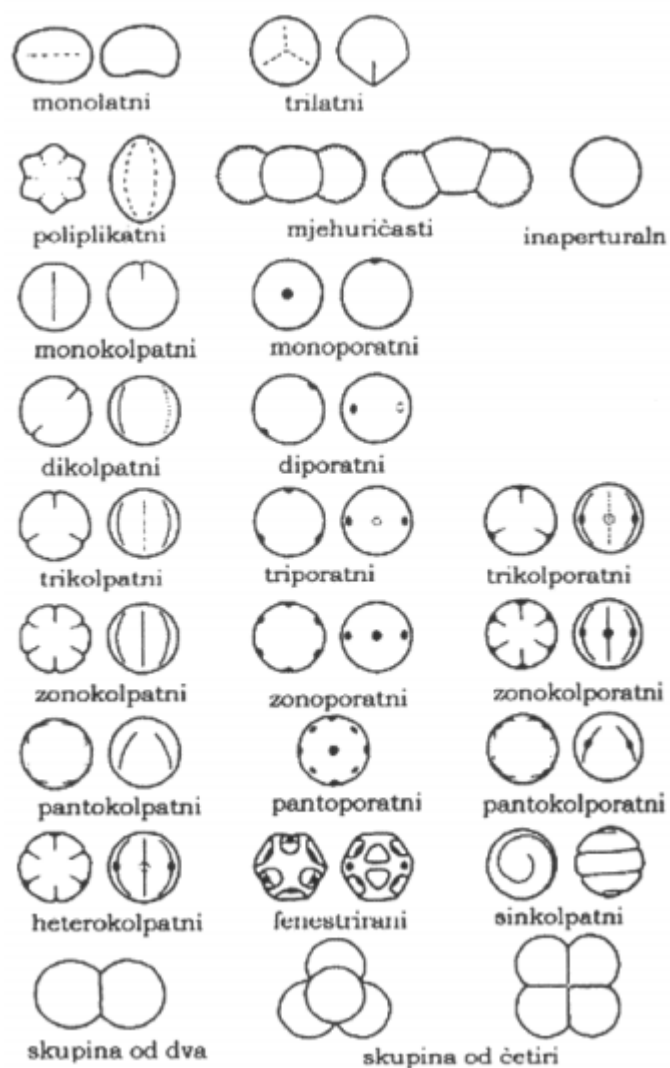


Slika 2 Podnica sa skupljačem peludi (Agro Simpa, 2018)

2.1.2. Morfološka obilježja peludi

Peludna zrnca pojedine biljne vrste su jednaka i imaju istu boju, tako da se po njihovoj prisutnosti u medu može odrediti o medu koje vrste se radi (Bačić i Sabo, 2007; Levaković, 2014). S obzirom na botaničko podrijetlo, pelud dijelimo na anemofilnu i entomofilnu. Anemofilnu pelud prenosi vjetar, dok entomofilnu prenose kukci. Kako bi se lakše zakačio na tijelo kukaca, entomofilna pelud je ljepljiva i ima hrapavu površinu. Anemofilna pelud siromašnijeg je kemijskog sastava zbog čega nije uvijek pogodna za prehranu pčela. Sitnija je, suha i glatke površine što je čini lakšom za prenošenje vjetrom. Peludna zrnca ovih vrsta zbog svoje sitnije građe češće izazivaju alergijske reakcije ljudi.

Veličina peludnog zrnca u promjeru varira od 2 do 250 μm (Zavod za javno zdravstvo Istarske županije, 2015). Oblik peludnog zrnca, uz boju, predstavlja glavni oblik determinacije peludi. U ovisnosti o odnosu polarne i ekvatorijalne osi, peludna zrnca mogu biti okruglastog, loptastog, jajastog ili nepravilnog oblika. Uglavnom su simetrična, rijetko asimetrična, a mogu doći kao samostalna ili u skupini od 2, 3 ili 4 zrnca (**Slika 3**).



Slika 3 Prikaz različitih vrsta peludnih zrnaca s obzirom na broj, oblik i položaj (Bačić i Sabo, 2007)

2.2. FIZIKALNO-KEMIJSKE KARAKTERISTIKE PČELINJE PELUDI

Kako je već spomenuto, pčelinja pelud sadrži sve hranjive tvari neophodne za rast i razvoj novog organizma. Značajan udio reducirajućih šećera, esencijalnih aminokiselina, zasićenih i nezasićenih masnih kiselina, minerala poput cinka, bakra, željeza, natrija i kalija, peludna zrnca čini važnim za ljudsku prehranu (Campos i sur., 2008). Sastav pčelinje peludi, ali i boja te morfološke osobine ovise kako o vrsti biljke, tako o sezoni i području skupljanja.

Iako neke zemlje poput Poljske, Bugarske, Švicarske i Brazila imaju svoje nacionalne standarde za kakvoću pčelinje peludi, u Republici Hrvatskoj, ali i svijetu oni još nisu razvijeni. Međunarodna komisija za med (eng. International Honey Commission, IHC) svjesna tog nedostatka pokrenula je pitanje kvalitete pčelinje peludi te došla do zaključka kako se osim fizikalno-kemijskih i mikrobioloških kriterija, u kriterije za kakvoću pčelinje peludi trebaju uvrstiti i relevantne biološke aktivnosti (Campos i sur., 2010). Trenutno na međunarodnoj razini postoji prijedlog standarda za kvalitetu pčelinje peludi u kojem su opisane preporučeni rasponi vrijednosti kemijskog sastava pčelinje peludi te metode određivanja parametara kvalitete (Campos i sur., 2008).

2.2.1. Voda

Svježe skupljena pčelinja pelud ima visok udio vode, od 20 do 30 %. Ovako visoka vlažnost čini pčelinju pelud podložnu mikrobiološkom kvarenju. Kako bi se spriječio razvoj mikroorganizama, prvenstveno kvasaca i bakterija, pčelinja pelud bi se trebala skupljati na dnevnoj bazi i skladištiti u zamrzivaču. Odmrznuta pčelinja pelud se mora iskoristiti u kratkom roku ili dalje procesirati, sušenjem. Temperatura sušenja ne bi trebala prelaziti 40 °C s obzirom da sušenjem može doći do gubitka nekih bitnih sastojaka poput vitamina E, β -karotena, provitamina A, ali i senzorskih svojstava. Kako bi se očuvala nutritivna i senzorska svojstva, Domínguez-Valhondo i sur. (2011) navode da je najbolje sušenje provesti liofilizacijom. Preporuča se da vlažnost ne bude manja od 3 % jer to može dovesti do gubitka boje i stvaranja nepoželjnih kemijskih reakcija koje dovode do promjene u okusu i mirisu (Campos i sur., 2010; Isik i sur., 2019; Lilek i sur., 2015; Kieliszek i sur., 2018).

2.2.2. Ugljikohidrati

Glavne komponente sastava pčelinje peludi su ugljikohidrati, čiji udio može iznositi i do dvije trećine ukupne mase pčelinje peludi. Iako udio i sastav ugljikohidrata ovisi o prvenstveno o botaničkom podrijetlu, na sastav i udio ugljikohidrata ima i sezona skupljanja. Prema istraživanju provedenom na pčelinjoj peludi u Sloveniji (Lilek i sur., 2015), količina ugljikohidrata kreće od 392,7 do 600 g/kg u svježoj pčelinjoj peludi, te od 547,5 do 739,8 g/kg u osušenim uzorcima pčelinje peludi. Campos i sur. (2008) u prijedlogu standarda preporučuju da količina ugljikohidrata u osušenoj pčelinjoj peludi ne bude manja od 40 g/100g.

Najzastupljeniji ugljikohidrati u pčelinjoj peludi su monosaharidi, fruktoza i glukoza, dok se disaharidi poput saharoze, turanoze, manoze, trehaloze, meliboze i meleziatoze također mogu pronaći, ali u puno nižim koncentracijama (Liolios i sur., 2018).

Vrlo bitni sastojci pčelinje peludi su oligosaharidi i polisaharidi koji imaju ulogu u regulaciji bioloških funkcija. Celuloza se u pčelinjoj peludi nalazi u koncentraciji od oko 3,72 % i služi u zaštiti bioaktivnih komponenata i očuvanju kemijskih svojstava. Pektin se isto tako može pronaći u značajnoj koncentraciji, ali njegov nutritivni značaj nije opisan (Kieliszek i sur., 2018).

2.2.3. Proteini

Iza ugljikohidrata, najzastupljeniji makronutrijenti u pčelinjoj peludi su proteini. Iako se pčelinja pelud smatra bogatom proteinima, njihov udio ovisi o botaničkom podrijetlu, a može se naći u koncentraciji od 7 do 35 %, kod nekih vrsta i 40 %. U prijedlogu standarda Campos i sur. (2008) navode da količina proteina ne bi trebala biti manja od 15 g/100 g osušene pčelinje peludi.

Osim o botaničkom podrijetlu, udio proteina i aminokiselina u pčelinjoj peludi varira i o sezoni skupljanja. Tako pčelinja pelud skupljana u proljeće i u ljeto neće imati isti udio proteina (Kieliszek i sur., 2018).

Sedamnaest od dvadeset aminokiselina može se pronaći u pčelinjoj peludi što joj daje toliku važnost u prehrani pčela, ali i ljudi. Najzastupljenije aminokiseline su prolin, glutaminska kiselina, asparaginska kiselina, lizin i leucin, koje zajedno čine gotovo 55 % ukupnih

aminokiselina pčelinje peludi. U posljednje vrijeme velika se pažnja pridodaje pčelinjoj peludi zbog značajnih količina triptofana koji ima pozitivne učinke u smanjenju depresije i anksioznosti kod ljudi (Campos i sur., 2008; Li i sur., 2018). Prema Lilek i sur. (2015) pelud vrbe pokazala se kao najbogatija triptofanom.

2.2.4. Masti

Na udio ukupnih masti u pčelinjoj peludi najviše utječe botaničko podrijetlo. U ovisnosti o količini masnih kiselina, karotenoida i vitamina, one će činiti od 1 do 13 % sastava pčelinje peludi. Najzastupljenije zasićene masne kiseline su miristinska (C14:0), stearinska (C18:0) i palmitinska (C16:0) (Li i sur., 2018).

Nezasićene masne kiseline čine i do 70 % ukupnih masnih kiselina, a najviše se može naći α -linolenske (C18:3), linolenske (C18:3) i oleinske kiseline (C18:1). Upravo one su odgovorne za pozitivan učinak pčelinje peludi na kardiovaskularni sustav jer sa kolesterolom stvaraju lako topiv kompleks, sprječavajući tako aterosklerozu (Campos i sur., 2008; Kieliszek i sur., 2018).

2.2.5. Mineralne tvari

Za pravilno odvijanje metabolizma i fizioloških reakcija potrebno je da u ljudskom organizmu budu zadovoljene potrebe za mineralima. Adekvatan unos minerala bitan je za održavanje homeostaze, zaštite stanica ali i sveukupnog zdravlja. Ukoliko se unos ne zadovolji, dolazi do metaboličkih poremećaja koji mogu dovesti i do razvoja bolesti (Kieliszek i sur., 2018).

Pčelinja pelud predstavlja značajan izvor makro i mikro elemenata koji su bitni za očuvanje zdravlja. Najzastupljeniji mineral u pčelinjoj peludi je kalij i čini 60 % ukupnog udjela minerala, slijede ga magnezij sa 20 %, te natrij i kalcij sa po 10 % udjela u ukupnim mineralima. Željezo, bakar, cink i mangan mogu se također naći u pčelinjoj peludi, u udjelu manjem od 1 %, ovisno o botaničkom podrijetlu pčelinje peludi (Campos i sur., 2008; Liolios i sur., 2019).

Osim botaničkog podrijetla, na sastav mineralnih tvari u pčelinjoj peludi utječe i geografsko podrijetlo što bi u budućnosti moglo uključiti udio minerala u određivanje podrijetla pčelinje peludi, ali i same kvalitete (Li i sur., 2018; Liolios i sur., 2019).

2.2.6. Vitamini

Pčelinja pelud se često naziva „vitaminska bomba“ upravo zbog velike količine vitamina u njenom sastavu. Vitamini su uključeni u brojne kemijske reakcije u organizmu što ih čini esencijalnim za rast organizma i normalno odvijanje metabolizma. Iako udio ovisi o sezoni, u pčelinjoj peludi nalazimo vitamine A, C, E, vitamine B skupine te provitamin β -karoten.

Vitamin C je najzastupljeniji sa udjelom od 70 do 560 mg/kg. Vitamina E se može pronaći od 40 do 320 mg/kg, a značajne su koncentracije i vitamina B skupine, posebice vitamina B3 kojeg se može pronaći od 40 do 110 mg/kg pčelinje peludi (Campos i sur., 2008; Kieliszek i sur., 2018).

Pčelinja pelud sadrži i β -karoten, prekursor vitamina A koji je poznat kao snažan antioksidans. U kilogramu pčelinje peludi može se pronaći od 10 do 200 mg β -karotena što čini pčelinju pelud značajnim izvorom ove bioaktivne komponente bitne za održavanje zdravlja krvožilnog sustava (Campos i sur., 2008; Li i sur., 2018).

2.3. ZDRAVSTVNI ASPEKT UPOTREBE PČELINJE PELUDI

Upotreba pčelinje peludi u prehrani ljudi poznata je još iz antičkog doba. Kroz povijest se pčelinja pelud koristila u liječenju različitih tegoba, kao antibiotik ili kao dodatak prehrani.

Danas ona pripada u funkcionalnu hranu i predmet je brojnih istraživanja. Iako diljem svijeta postoje dokazi o djelotvornosti pčelinje peludi, nedostaju znanstvena istraživanja koja to potkrepljuju. Ovisno o biljnoj vrsti od koje potječe, pčelinja pelud pokazuje različita terapijska svojstva (Mărgăoan i sur., 2019).

Preporučena terapijska doza kod ljudi iznosi 20 do 50 g pčelinje peludi na dan koji se konzumira u tri obroka prije jela. Konzumira se u periodu od nekoliko mjeseci, dva do četiri puta godišnje uz pauze koje su važne kako bi se spriječilo razvijanje rezistentnosti. Preporuča se da se pelud prije konzumacije usitni ili natopi kako bi se potaknulo otpuštanje tvari, a time i povećala iskoristivost. Pčelinja pelud se ne preporuča dijabetičarima jer ona podiže razinu šećera u krvi (Bogdanov, 2017).

Radi visoke razine flavonoida i polifenola u svom sastavu, pčelinja pelud se smatra učinkovitim u neutralizaciji slobodnih radikala. Flavonoidi inaktiviraju elektrofile, reaktivne vrste kisika, slobodne radikale te tako sprječavaju mutacije nastale ovim vrstama. Osim toga, flavonoidi vežu slobodne metale čime detoksificiraju tijelo. Zbog pristunosti flavonoida pčelinja pelud posjeduje i protuupalni učinak. Kvercetin inhibira metabolizam arahidonske kiseline čime se smanjuje nastanak proinflammatory prostaglandina. Zajedno sa rutinom, kvercetin pokazuje i kemopreventivan učinak tako što potiče apoptozu odnosno programiranu smrt stanice. Osim flavonoida, za antiinflammatory učinak pčelinje peludi zaslužna je i prisutnost masnih kiselina te fitosterola koji štite kardiovaskularni sustav i bubrege. Fitosteroli djelomično inhibiraju crijevnu apsorpciju kolesterola, inhibirajući aterogenezu čime sprječavaju nastanak raka dojke, prostate, te stimuliraju imuno i protuupalne reakcije (Bogdanov, 2016; Denisow i Denisow-Pietrzyk, 2016).

Pozitivan učinak pčelinje peludi pokazao se i u liječenju osteoporoze. Osteoporoza je bolest koštanog tkiva u kojem se ono reducira te tako postaje krhko i lomljivo. Istraživanja su pokazala da vodeni ekstrakt peludi vrste *Cistus ladaniferus* inhibira nastanak osteoklastičnih stanica koje dovode do povećanja alkalne fosfataze i povećanja sadržaja kalcija u kostima (Campos i sur., 2010).

Ispitivanja provedena na miševima ukazala su na rast crvenih krvnih stanica i razine hemoglobina uslijed korištenja pčelinje peludi. Ovo svojstvo pomaže u liječenju i sprječavanju anemije (Bogdanov, 2016).

Terapeutski učinak pčelinje peludi koji se također pokazao efikasnim jeste i smanjenje intenziteta alergijskog odgovora. Naime, svake godine milijuni ljudi diljem svijeta uslijed cvatnje određenih biljaka, pate od peludne hunjavice, pa čak i astme. Uzimanje pčelinje peludi prije same sezone polinacije, pokazalo je znatno poboljšanje simptoma kod alergičara. Smatra se da kvercetin iz pčelinje peludi sprječava oslobađanje histamina i tako smanjuje alergijske pojave (Levaković, 2014).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak diplomskog rada bio je odrediti fizikalno-kemijski sastav pčelinje peludi različitog botaničkog podrijetla kako bi se utvrdile specifičnosti. U tu svrhu određen je udio vode, mineralnih tvari, bjelančevina, ukupne masti te sastav i udio ugljikohidrata.

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Uzorci pčelinje peludi

Šesnaest uzoraka pčelinje peludi prikupljano je na tri lokacije u Republici Hrvatskoj (Otočac, Senj i Krapina) tijekom pčelarske sezone 2019. godine u razdoblju travnja, svibnja i lipnja. Nakon skupljanja, uzorci peludi su klasificirani prema boji s ciljem dobivanja monofloernih poduzoraka. Uzorci su potom smrznuti na -18 °C prije daljnjih analiza radi očuvanja bioloških i kemijskih svojstava. Nakon provedene peludne analize u svrhu određivanja botaničkog podrijetla uzorci pčelinje peludi su klasificirani kako je navedeno u **Tablici 1**.

Tablica 1. Popis uzoraka s obzirom na lokaciju i vrijeme skupljanja

Oznaka skupnog uzorka	Lokacija	Vrijeme skupljanja uzorka	Izdvojeni monoflorni uzorci
1	Krapina	1.4.2019.	Maslačak (<i>Taraxacum officinale</i> L.) Vrba (<i>Salix</i> spp.) Trnina (<i>Prunus spinosa</i> L.)
2	Otočac	1.4.2019.	Trnina (<i>Prunus spinosa</i> L.)
3	Krapina	15.4.2019.	Divlji kesten (<i>Aesculus hippocastanum</i> L.) Vrba (<i>Salix</i> spp.)
4	Senj	15.4.2019.	Dvogodišnji dimak (<i>Crepis biennis</i> L.) Rašeljka (<i>Prunus mahaleb</i> L.)
5	Otočac	15.4.2019.	Divlja trešnja (<i>Prunus</i> spp.)
6	Krapina	1.5.2019.	
7	Otočac	1.5.2019.	Hrast medunac (<i>Quercus pubescens</i> Willd.)
8	Senj	1.5.2019.	Hrast medunac (<i>Quercus pubescens</i> Willd.)
9	Krapina	15.5.2019.	Mak (<i>Papaver rhoeas</i> L.)
10	Otočac	15.5.2019.	
11	Krapina	1.6.2019.	
12	Senj	1.6.2019.	
13	Otočac	1.6.2019.	Končara (<i>Filipendula vulgaris</i> Moench.)
14	Otočac	15.6.2019.	Facelija (<i>Phacelia tanacetifolia</i> Benth.)
15	Krapina	15.6.2019.	
16	Senj	15.6.2019.	

3.2.2. Peludna analiza

Melisopalinološka ili peludna analiza provedena je kako bi se potvrdilo da se uzorak može označiti kao monoflorni odnosno da ima ≥ 80 % peludnih zrnaca jedne botaničke vrste u netopivom sedimentu (Barth i sur., 2010). Za pripremu mikroskopskih preparata, u epruvetu za centrifugiranje, izvagano je po 2 grama peluda iz svakog poduzorka koji su potom otopljeni sa 70 %-tnim etanolom da bi se dobilo 10 mL otopine. Otopina je vorteksirana, nakon čega je stavljena pet minuta u ultrazvučnu kupelj, a zatim ostavljena da odstoji 25 minuta. Otopina je centrifugirana tri minute pri 1500 okretaja u minuti. Dobiveni talog je resuspendiran s etanolom nakon čega je postupak ponovljen. Sedimentu je dodano 7 mL vode i otopine

glicerola (1:1) i ostavljeno 30 minuta. Smjesa je otopljena dva puta s vodom i otopinom glicerola, a dobiveni talog je pomiješan kapaljkom i prenesen na mikroskopsko stakalce. Najmanje 500 zrnaca peludi izbrojano je u svakom preparatu i identificirano koristeći mikroskop (Optika Microscopes B800Ph, Ponteranica, Italija) pri povećanju 400x. Za identifikaciju botaničkog podrijetla korištene su CMS Celle's Melissopalynological Collection (von der Ohe, 2003) i Ponet Pollen baze podataka.

3.2.3. Određivanje vode sušenjem u vakuumu

U prethodno osušenu, u eksikatoru ohlađenu i izvagano aluminijsku posudicu s poklopcem stavljeno je 3 g (± 1 mg) uzorka. Posudica je poklopljena odgovarajućim poklopcem nakon čega je izvagana. Nakon vaganja poklopac je skinut i zajedno s aluminijskom posudicom stavljen u vakuum sušionik (Vakuum sušionik/Liofilizator: Christ, model: Alpha LSCplus), kojem su prethodno podešeni parametri, temperatura 60 ± 20 °C, tlak 6,7 kPa (<50 mmHg). Nakon odgovarajućeg vremena sušenja (9 sati), posudice su poklopljene, hladene minimalno 45 minuta u eksikatoru i izvagane. Postupak je ponavljan dok se nije postigla konstantna masa.

Udio vode izračunat je prema formuli **(1)**:

$$\% \text{ vode} = \frac{a \cdot 100}{b} \quad (1)$$

a – masa isparene vode (g)

b – masa ispitivanog uzorka (g)

3.2.4. Određivanje količine mineralnih tvari

Za određivanje količine mineralnih tvari u porculanski lončić, prethodno žaren na temperaturi od 550 °C, ohlađen u eksikatoru i izvagan, odvagano je 3 g ($\pm 0,01$ g) uzorka koji je ravnomjerno raspoređen po lončiću. Nakon toga uzorak je polako zagrijavan preko električnog grijača dok ne karbonizira. Kad je karbonizirao, lončić je prenesen u mufolnu peć, prethodno zagrijanu na 550 °C, gdje se žario sve dok se nije dobio bijel, žućkast ili zelenkast pepeo. Ukoliko je ostatak

u zdjelici sadržavao nespaljene čestice ugljika, ohlađen je i potom navlažen malom količinom vode uz dodatak par kapi dušične kiseline, osušen i ponovno spaljen u mufolnoj peći.

Postupak tretiranja pepela s dušičnom kiselinom:

Nakon 3 sata žarenja, sadržaj pepela se pokapao sa ultrapročišćenom vodom te je dodana koncentrirana dušična kiselina (65 %) toliko da prekrije pepeo (2 - 4 mL). Lončić je prekriven satnim stakalcem i zagrijavan na električnom grijaču kako bi se sadržaj zdjelice upario, ali bez da kuha. Sadržaj je ovako uparavan dok kiselina nije otparila, a potom žaren u mufolnoj peći na 550 °C sat vremena. Nakon žarenja slijedilo je hlađenje u eksikatoru te vaganje s točnošću $\pm 0,1$ mg. Postupak spaljivanja ponavljan je do postignuća konstantne mase.

Udio pepela izračunat je prema formuli (2):

$$\% \text{ pepela} = \frac{a \cdot 100}{b} \quad (2)$$

a – masa pepela (g)

b – masa ispitivanog uzorka (g)

3.2.5. Određivanje bjelančevina po Kjeldahl-u

Postupak u bloku za spaljivanje: 0,8 g ($\pm 0,1$ mg) uzorka odvagano je na listić celofana, umotano i ubačeno u čistu i suhu epruvetu. 10 g Na_2SO_4 i 0,1 g CuSO_4 izvagano je u papirnatu lađicu i preneseno u epruvetu. Potom je u epruvetu dodano 15 mL koncentrirane H_2SO_4 te su epruvete stavljene na stalak za spaljivanje na 30 minuta. Nakon 30 minuta, epruvete su lagano protresene, spojene na sistem za odsisavanje i stavljene u prethodno zagrijan blok (420 °C). Prvih 5 minuta razaranje je provedeno na maksimalnom protoku zraka (voda na sisaljci maksimalno otvorena), nakon čega je smanjen na minimum. Razaranje je provođeno oko 1 sat, a zatim su uzorci izvađeni i ohlađeni. U ohlađene uzorke dodano je po 75 mL vode te je uslijedila destilacija.

Postupak destilacije: Epruveta sa spaljenim uzorkom i dodanom vodom stavljena je u ležište aparata za destilaciju, a Erlenmeyerova tikvica s 25 mL 0,1 M HCl i par kapi indikatora postavljena je kao predložak tako da je crijevo uronjeno u tikvicu. U epruvetu sa spaljenim uzorkom dodano je oko 50 mL 35 %-tne NaOH te je destilacija provođena dok se nije uhvatilo

oko 100 mL destilata. Kraj destilacije provjeren je provjerom pH destilata indikator papirom. Po završetku destilacije uzorak je istitriran s 0,1 M NaOH.

Udio dušika izračunat je prema formuli **(3)**:

$$\% N = \frac{(a-b) \cdot f \cdot 0,14}{c \cdot 10} \quad (3)$$

a – 0,1 M otopina NaOH upotrebljenog za titraciju slijepog pokusa (mL)

b – 0,1 M otopina NaOH upotrebljenog za titraciju glavne probe (mL)

f – faktor upotrebljenog 0,1 M NaOH

c – količina uzorka (g)

Količina bjelančevina u uzorcima pčelinje peludi izračunata je množenjem udjela dušika izračunatog prema formuli **(3)** sa faktorom 5,6.

3.2.6. Određivanje ukupnih masti po Soxhlet-u uz prethodnu digestiju

Postupak digestije: U čašu od 250 mL izvagano je 3 g uzorka. U to je dodano nekoliko kuglica za vrenje, 45 mL vode koja ključa i 55 mL 8 M HCl. Otopina je grijana dok nije proključala, a nakon ključanja mjereno je 15 minuta. Čaša i satno stakalce su nekoliko puta ispirani destiliranom vodom, a sadržaj filtriran i ispiran sa vodom do negativne reakcije na kloride. Reakcija je ispitivana s 0,1 M AgNO₃ tako da je u filtrat dodano nekoliko kapi 0,1 M AgNO₃. Reakcija je negativna ako filtrat ostane bistar, do bijelog zamućenja dolazi ako su prisutni kloridi.

Nakon digestije filter papir je prenesen u tuljak, tuljak na satno staklo i sušen 2 sata na 100 °C. Satno staklo na kojem se sušio tuljak, satno stakalce kojim je bila prekrivena čaša i čaša su nakon sušenja prebrisani vatom natopljenom petrol-eterom i stavljene u tuljak. Tuljak je još jednom čistom vatom zatvoren i tako je pripremljen za ekstrakciju masti po Soxhlet-u.

Postupak ekstrakcije masti po Soxhlet-u: Tikvica po Soxhlet-u pripremljena je za postupak tako da je osušena zajedno sa nekoliko kuglica za vrenje na temperaturi od 100-102 °C jedan sat i nakon toga ohlađena u eksikatoru 30 minuta i izvagana na analitičkoj vagi. Osušeni tuljak stavljen je u ekstraktor aparata po Soxhlet-u, spojen s tikvicom te je u to dodano 150 mL

petrol-etera. Ekstrakcija se provodila minimalno 4 sata. Otapalo je potom predestilirano, ostatak isparen na vodenoj kupelji, a tikvica osušena u sušioniku na temperaturi od 100-102 °C ili u u vakuumu na temperaturi od 70 °C u trajanju od jednog sata. Tikvica je nakon sušenja hlađena u eksikatoru 30 minuta i potom je vagana na analitičkoj vagi. Postupak sušenja je ponavljan do konstantne mase.

Udio ukupnih masti izračunat je prema formuli (4):

$$\% masti = \frac{a \cdot 100}{b} \quad (4)$$

a – masa ekstrahirane masti (g)

b – masa ispitivanog uzorka (g)

3.2.7. Određivanje ugljikohidrata visokotlačnom tekućinskom kromatografijom (HPLC)

Analiza ugljikohidrata u uzorcima pčelinje peludi provedena je na uređaju za visokotlačnu tekućinsku kromatografiju (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) s detektorom indeksa loma.

Provedena je identifikacija i kvantifikacija glukoze, fruktoze, saharoze, maltoze, melecitoze i rafinoze. Za odjeljivanje šećera korištena je kolona Agilent Zorbax NH₂, dimenzija 4,6×250 mm, punjena česticama veličine 5 μm, pri temperaturi kolone 30 °C. Pokretna faza sastojala se od acetonitrila (J. T. Baker, Avantor, Poljska) i ultrapročišćene vode u omjeru 75:25 (v/v), protok mobilne faze bio je 1,3 mL/min, a volumen injektiranja 10 μL.

Za analizu ugljikohidrata odvagano je 1 g uzorka u odmjernu tikvicu od 10 mL te je dodano 5 mL otopine metanol:voda (3:1, v/v), po 0,1 mL Carezz I i Carezz II otopina te je odmjerna tikvica nadopunjena do oznake s otopinom metanol:voda. Odmjerna tikvica je potom stavljena u ultrazvučnu kupelj na 5-10 min, nakon čega je profiltrirana kroz filter papir, a nakon toga još i kroz membranski filter za vodene otopine veličine pora 0,22 μm. Profiltrirana otopina stavljena je u vialu autosamplera i analizirana na HPLC uređaju (Liolios i sur., 2018).

Identifikacija i kvantifikacija provedena je pomoću računalnog programa LabSolution Lite (Version 5.52). Kvantifikacija je provedena metodom vanjske kalibracije.

4. REZULTATI

Tablica 2 Fizikalno-kemijske karakteristike skupnih uzoraka pčelinje peludi sa lokacije Krapina

Parametar	Vrijeme skupljanja uzoraka					
	1.4.2019.	15.4.2019.	1.5.2019.	15.5.2019.	1.6.2019.	15.6.2019.
Udio vode (%)	15,94±0,03	16,05±0,02	15,01±0,13	22,40±0,05	18,33±0,05	16,05±0,06
Udio pepela (%)*	2,80±0,04	2,57±0,05	1,75±0,00	2,58±0,06	2,74±0,06	2,76±0,04
Udio bjelančevina (%)*	23,19±0,16	19,21±0,57	14,73±0,18	16,75±0,23	17,24±0,12	18,91±0,14
Udio ukupnih masti (%)*	8,54±0,06	9,47±0,10	18,36±0,28	9,93±0,01	8,74±0,22	8,83±0,05
Udio fruktoze (%)*	10,8±0,1	14,0±0,1	19,7±0,4	20,1±0,6	20,1±0,4	19,1±0,6
Udio glukoze (%)*	9,0±0,1	11,9±0,0	15,9±0,2	15,0±0,2	14,1±0,4	14,6±0,7
Udio saharoze (%)*	22,1±0,8	11,0±1,0	8,9±0,4	5,9±0,6	8,3±0,1	8,6±0,2
Udio maltoze (%)*	0,7±0,1	1,6±0,1	3,1±0,0	3,9±0,2	3,2±0,5	1,9±0,1
Udio melecitoze (%)*	0,9±0,1	0,3±0,0	1,5±0,1	0,3±0,0	0,3±0,0	ND
Udio rafinoze (%)*	ND	ND	0,2±0,1	ND	0,0±0,0	0,1±0,0

*vrijednosti izražene na suhu tvar, ND-nije detektirano

Tablica 3 Fizikalno-kemijske karakteristike skupnih uzoraka pčelinje peludi sa lokacije Otočac

Parametar	Vrijeme skupljanja uzoraka					
	1.4.2019.	15.4.2019.	1.5.2019.	15.5.2019.	1.6.2019.	15.6.2019.
Udio vode (%) *	14,66±0,06	16,46±0,01	13,78±0,03	22,21±0,08	19,78±0,04	17,15±0,08
Udio pepela (%) *	2,89±0,01	2,45±0,00	2,08±0,00	1,84±0,00	2,38±0,01	2,25±0,00
Udio bjelančevina (%) *	23,30±0,16	17,40±0,26	17,31±0,23	15,59±0,20	16,76±0,20	18,17±0,04
Udio ukupnih masti (%) *	8,89±0,04	13,71±0,36	13,35±0,43	14,57±0,14	6,13±0,18	6,94±0,11
Udio fruktoze (%) *	14,0±0,8	16,4±0,4	18,7±0,4	19,9±0,4	18,9±0,1	18,4±0,3
Udio glukoze (%) *	10,7±1,3	13,6±0,6	14,3±0,0	18,7±0,6	15,4±0,9	15,3±0,3
Udio saharoze (%) *	15,9±0,2	8,7±0,3	11,9±0,3	7,6±0,3	5,8±0,1	8,4±0,1
Udio maltoze (%) *	0,9±0,0	2,2±0,1	3,2±0,1	5,0±0,3	3,6±0,1	2,8±0,4
Udio melecitoze (%) *	0,4±0,0	0,3±0,0	1,2±0,0	ND	0,0±0,0	0,0±0,0
Udio rafinoze (%) *	ND	ND	0,2±0,0	0,1±0,0	0,2±0,0	0,1±0,0

*vrijednosti izražene na suhu tvar, ND-nije detektirano

Tablica 4 Fizikalno-kemijske karakteristike skupnih uzoraka pčelinje peludi sa lokacije Senj

Parametar	Vrijeme skupljanja uzoraka			
	15.4.2019.	1.5.2019.	1.6.2019.	15.6.2019.
Udio vode (%)	15,01±0,05	22,84±0,14	14,18±0,23	19,31±0,12
Udio pepela (%)*	2,49±0,00	2,08±0,03	2,23±0,02	2,06±0,00
Udio bjelančevina (%)*	19,54±0,08	17,22±0,09	21,19±0,04	20,02±0,10
Udio ukupnih masti (%)*	8,88±0,08	10,80±0,23	8,53±0,11	9,79±0,06
Udio fruktoze (%)*	14,2±0,3	22,6±0,0	23,5±0,1	23,9±0,4
Udio glukoze (%)*	11,9±0,1	16,8±0,0	14,3±0,5	16,4±0,0
Udio saharoze (%)*	8,5±0,6	3,2±0,1	2,7±0,4	5,1±0,2
Udio maltoze (%)*	1,0±0,1	3,9±0,0	2,7±0,0	2,3±0,0
Udio melecitoze (%)*	0,3±0,0	ND	ND	0,1±0,1
Udio rafinoze (%)*	0,0±0,0	0,2±0,0	0,1±0,1	0,1±0,0

*vrijednosti izražene na suhu tvar, ND-nije detektirano

Tablica 5 Fizikalno-kemijske karakteristike monoflorne pčelinje peludi vrbe (*Salix* spp.)

Parametar	Uzorak	
	Krapina (1.4.2019.)	Krapina (15.4.2019.)
Udio vode (%)	14,60±0,08	15,93±0,14
Udio pepela (%)*	2,92±0,04	3,02±0,00
Udio bjelančevina (%)*	19,79±0,08	21,03±0,08
Udio ukupnih masti (%)*	7,21±0,02	7,75±0,04
Udio fruktoze (%)*	17,3±0,2	16,2±0,6
Udio glukoze (%)*	13,0±0,3	14,0±0,4
Udio saharoze (%)*	16,2±0,0	14,0±0,2
Udio maltoze (%)*	1,6±0,3	1,6±0,1
Udio melecitoze (%)*	2,2±0,1	2,1±0,0
Udio rafinoze (%)*	ND	0,0±0,0

*vrijednosti izražene na suhu tvar, ND-nije detektirano

Tablica 6 Fizikalno-kemijske karakteristike monoflorne pčelinje peludi trnine
(*Prunus spinosa* L.)

Parametar	Uzorak	
	Krapina (1.4.2019.)	Otočac (1.4.2019.)
Udio vode (%)	14,01±0,04	11,30±0,01
Udio pepela (%)*	2,93±0,02	3,02±0,01
Udio bjelančevina (%)*	23,93±0,80	23,72±0,04
Udio ukupnih masti (%)*	8,57±0,11	8,54±0,08
Udio fruktoze (%)*	11,0±0,5	12,3±0,2
Udio glukoze (%)*	9,1±0,6	10,6±0,1
Udio saharoze (%)*	20,4±0,5	18,7±0,4
Udio maltoze (%)*	0,6±0,1	0,5±0,1
Udio melecitoze (%)*	0,9±0,1	0,3±0,0
Udio rafinoze (%)*	ND	ND

*vrijednosti izražene na suhu tvar, ND-nije detektirano

Tablica 7 Fizikalno-kemijske karakteristike monoflorne pčelinje peludi hrasta medunca (*Quercus pubescens* Willd)

Parametar	Uzorak	
	Otočac (1.5.2019.)	Senj (1.5.2019.)
Udio vode (%)	26,48±0,11	14,82±0,11
Udio pepela (%)*	2,05±0,03	2,10±0,01
Udio bjelančevina (%)*	16,43±0,06	18,20±0,16
Udio ukupnih masti (%)*	11,56±0,12	10,98±0,03
Udio fruktoze (%)*	24,3±0,2	20,7±0,1
Udio glukoze (%)*	19,9±0,1	14,7±0,3
Udio saharoze (%)*	4,1±0,1	10,9±0,2
Udio maltoze (%)*	3,3±0,3	3,2±0,2
Udio melecitoze (%)*	0,1±0,0	0,5±0,0
Udio rafinoze (%)*	0,2±0,0	0,3±0,1

*vrijednosti izražene na suhu tvar

Tablica 8 Fizikalno-kemijske karakteristike monoflorne pčelinje peludi maslačka (*Taraxacum officinale* L.)

Parametar	Uzorak
	Krapina (1.4.2019.)
Udio vode (%)	21,40±0,04
Udio pepela (%)*	1,15±0,01
Udio bjelančevina (%)*	14,02±0,08
Udio ukupnih masti (%)*	19,04±0,03
Udio fruktoze (%)*	18,6±0,4
Udio glukoze (%)*	18,8±0,0
Udio saharoze (%)*	1,6±0,0
Udio maltoze (%)*	4,4±0,1
Udio melecitoze (%)*	0,3±0,0
Udio rafinoze (%)*	0,1±0,0

*vrijednosti izražene na suhu tvar

Tablica 9 Fizikalno-kemijske karakteristike monoflorne pčelinje peludi divljeg kestena
(*Aesculus hippocastanum* L.)

Parametar	Uzorak
	Krapina (15.4.2019.)
Udio vode (%)	14,18±0,08
Udio pepela (%)*	2,95±0,11
Udio bjelančevina (%)*	27,26±0,32
Udio ukupnih masti (%)*	6,19±0,07
Udio fruktoze (%)*	10,9±0,4
Udio glukoze (%)*	9,0±0,6
Udio saharoze (%)*	5,2±0,0
Udio maltoze (%)*	0,9±0,0
Udio melecitoze (%)*	0,2±0,0
Udio rafinoze (%)*	ND

*vrijednosti izražene na suhu tvar, ND-nije detektirano

Tablica 10 Fizikalno-kemijske karakteristike monoflorne pčelinje peludi dvogodišnjeg dimka
(*Crepis biennis* L.)

Parametar	Uzorak
	Senj (15.4.2019.)
Udio vode (%)	17,49±0,17
Udio pepela (%)*	1,57±0,05
Udio bjelančevina (%)*	16,60±0,00
Udio ukupnih masti (%)*	14,49±0,25
Udio fruktoze (%)*	20,1±1,0
Udio glukoze (%)*	15,5±0,9
Udio saharoze (%)*	4,5±0,2
Udio maltoze (%)*	3,4±0,9
Udio melecitoze (%)*	0,2±0,0
Udio rafinoze (%)*	0,2±0,0

*vrijednosti izražene na suhu tvar

Tablica 11 Fizikalno-kemijske karakteristike monoflorne pčelinje peludi rašeljke (*Prunus mahaleb* L.)

Parametar	Uzorak
	Senj (15.4.2019.)
Udio vode (%)	12,75±0,04
Udio pepela (%)*	3,09±0,03
Udio bjelančevina (%)*	22,24±0,16
Udio ukupnih masti (%)*	8,62±0,13
Udio fruktoze (%)*	14,2±0,9
Udio glukoze (%)*	12,0±0,6
Udio saharoze (%)*	14,4±0,8
Udio maltoze (%)*	2,6±0,4
Udio melecitoze (%)*	0,1±0,0
Udio rafinoze (%)*	0,2±0,1

*vrijednosti izražene na suhu tvar

Tablica 12 Fizikalno-kemijske karakteristike monoflorne pčelinje peludi divlje trešnje (*Prunus* spp.)

Parametar	Uzorak
	Otočac (15.4.2019.)
Udio vode (%)	16,76±0,01
Udio pepela (%)*	2,39±0,00
Udio bjelančevina (%)*	17,36±0,42
Udio ukupnih masti (%)*	12,08±0,19
Udio fruktoze (%)*	18,7±0,5
Udio glukoze (%)*	16,0±0,6
Udio saharoze (%)*	9,7±0,2
Udio maltoze (%)*	1,2±0,3
Udio melecitoze (%)*	0,2±0,0
Udio rafinoze (%)*	ND

*vrijednosti izražene na suhu tvar, ND-nije detektirano

Tablica 13 Fizikalno-kemijske karakteristike monoflorne pčelinje peludi maka (*Papaver rhoeas* L.)

Parametar	Uzorak
	Krapina (15.5.2019.)
Udio vode (%)	18,15±0,03
Udio pepela (%)*	2,07±0,03
Udio bjelančevina (%)*	22,73±0,26
Udio ukupnih masti (%)*	7,50±0,05
Udio fruktoze (%)*	25,7±0,1
Udio glukoze (%)*	18,1±0,0
Udio saharoze (%)*	4,1±0,4
Udio maltoze (%)*	2,2±0,1
Udio melecitoze (%)*	ND
Udio rafinoze (%)*	ND

*vrijednosti izražene na suhu tvar, ND-nije detektirano

Tablica 14 Fizikalno-kemijske karakteristike monoflorne pčelinje peludi končare (*Filipendula vulgaris* Moench.)

Parametar	Uzorak
	Otočac (1.6.2019.)
Udio vode (%)	17,68±0,01
Udio pepela (%)*	2,08±0,00
Udio bjelančevina (%)*	14,34±0,29
Udio ukupnih masti (%)*	4,51±0,11
Udio fruktoze (%)*	19,3±0,0
Udio glukoze (%)*	16,1±0,8
Udio saharoze (%)*	7,4±0,0
Udio maltoze (%)*	2,2±0,1
Udio melecitoze (%)*	0,1±0,1
Udio rafinoze (%)*	0,1±0,0

*vrijednosti izražene na suhu tvar

Tablica 15 Fizikalno-kemijske karakteristike monoflorne pčelinje peludi facelije (*Phacelia tanacetifolia* Benth.)

Parametar	Uzorak
	Otočac (15.6.2019.)
Udio vode (%)	17,65±0,02
Udio pepela (%)*	2,72±0,01
Udio bjelančevina (%)*	26,32±0,11
Udio ukupnih masti (%)*	5,85±0,02
Udio fruktoze (%)*	24,3±0,0
Udio glukoze (%)*	18,5±0,2
Udio saharoze (%)*	4,4±0,5
Udio maltoze (%)*	3,4±0,1
Udio melecitoze (%)*	0,3±0,0
Udio rafinoze (%)*	0,1±0,0

*vrijednosti izražene na suhu tvar

5. RASPRAVA

Prema zadatku diplomskog rada određen je sastav pčelinje peludi različitog botaničkog podrijetla s različitih lokacija u Republici Hrvatskoj (Krapina, Otočac i Senj), a dobivene vrijednosti uspoređene su sa dostupnim literaturnim podacima.

Udio vode bitan je pokazatelj stabilnosti pčelinje peludi tj. njezine podložnosti kvarenju djelovanjem različitih mikroorganizama. Udio vode u skupnim uzorcima svježe pčelinje peludi kretao se od $13,78 \pm 0,03$ % do $22,84 \pm 0,14$ % (**Tablice 2-4**) što je u skladu sa rezultatima objavljenim za slovensku svježu pčelinju pelud kod kojih je udio vode iznosio 15,7 – 29, 2 % (Lilek i sur., 2015). Usporedbom dobivenih podataka za sve ispitivane monoflorne vrste pčelinje peludi, najmanji udio vode ($11,30 \pm 0,01$ %) određen je u peludi trnine (*Prunus spinosa* L.) s područja Otočca (**Tablica 6**) dok je najveći određen u peludi hrasta medunca (*Quercus pubescens* Willd.), također s područja Otočca (**Tablica 7**) i iznosio je $26,48 \pm 0,11$ %. Da na sastav pčelinje peludi, posebice na udio vode, ne utječe samo botaničko podrijetlo već i okolišni uvjeti, vidljivo je iz usporedbe rezultata s obzirom na područje skupljanja. Monoflorna pčelinja pelud trnine (*Prunus spinosa* L.) skupljana u isto vrijeme, s područja Krapine ima veći udio vode ($14,01 \pm 0,04$ %) od peludi s područja Otočca ($11,30 \pm 0,01$ %) (**Tablica 6**), a mogući razlog dobivenoj razlici jest povećana relativna vlažnost zraka na području Krapine u vrijeme skupljanja uzoraka. Kako bi se potvrdio utjecaj okolišnih uvjeta na udio vode u pčelinjoj peludi potrebna su daljnja istraživanja na većem broju uzoraka te mjerenje relativne vlažnosti zraka i temperatura u vrijeme skupljanja uzoraka. Razlika u udjelu vode u uzorcima skupljenim na različitim lokacijama u isto vrijeme vidljiva je i kod skupljene monoflorne peludi hrasta medunca (*Quercus pubescens* Willd.) (**Tablica 7**) s područja Otočca i Senja. Dok je u peludi s područja Otočca izmjereni udio vode iznosio $26,48 \pm 0,11$ %, u uzorku s područja Senja, prikupljanog isti dan, utvrđeno je gotovo upola manje vode, $14,82 \pm 0,11$ %. S obzirom na vrijeme skupljanja, monoflorna pčelinja pelud vrbe (*Salix* spp.) (**Tablica 5**) s područja Krapine skupljana 1.4.2019. imala je udio vode $14,60 \pm 0,08$ %, a pelud skupljanja 15.4.2019., s istog područja imala je nešto veći udio vode, $15,93 \pm 0,14$ %. U istraživanju koje su Lilek i sur. (2015) proveli na slovenskoj svježoj pčelinjoj peludi također je pokazano kako se udio vode u pčelinjoj peludi iste vrste i istog područja razlikovao, a kao razlog autori navode higroskopnost pčelinje peludi i razliku u relativnoj vlažnosti zraka. Udio vode u monoflornoj pčelinjoj peludi maslačka (*Taraxacum officinale* L.) s područja Krapine (**Tablica 8**) iznosi $21,40 \pm 0,04$ % što je u skladu s podacima za monoflornu pčelinju pelud maslačka ($20,13 \pm 1,75$ %) prema Spulber i sur. (2017).

Ugljikohidrati se nalaze u pčelinjoj peludi u najvećoj koncentraciji. Određivanjem sastava ugljikohidrata u skupnim uzorcima pčelinje peludi (**Tablice 2-4**) utvrđeno je kako najviše ima fruktoze ($10,8 \pm 0,1$ % - $23,9 \pm 0,4$ %), zatim glukoze ($9,0 \pm 0,1$ % - $18,7 \pm 0,6$ %) i saharoze ($2,7 \pm 0,4$ % - $22,1 \pm 0,8$ %) što je u skladu s ostalim literaturnim podacima (Li i sur., 2018; Liolios i sur., 2018; Sattler Gasparotto i sur., 2015). Pelud maslačka (*Taraxacum officinale* L.) (**Tablica 8**) u svom sastavu imala je jednak udio glukoze ($18,8 \pm 0,0$ %) i fruktoze ($18,6 \pm 0,4$ %) dok je udio saharoze bio nešto niži u odnosu na minimalnu vrijednost skupnih uzoraka ($1,6 \pm 0,0$ %). Usporede li se podaci dobiveni u ovom istraživanju s onima koje su objavili Liolios i sur. (2018) za monoflornu pčelinju pelud maslačka iz Grčke, udio glukoze je isti ($18,7$ % u grčkom i $18,6$ % u hrvatskom uzorku), udio fruktoze je viši u grčkom uzorku monoflorne peludi maslačka ($20,89$ %) dok saharoza u tom uzorku nije detektirana. Od ostalih ugljikohidrata koji su analizirani u uzorcima pčelinje peludi, melecitoza i rafinoza nisu detektirane u svim uzorcima. Melecitoza nije detektirana u uzorku pčelinje peludi maka (*Papaver rhoeas* L.) (**Tablica 13**), a rafinoza u monoflornim uzorcima vrbe (*Salix* spp.) (1.4.2019., Krapina), trnine (*Prunus spinosa* L.), divljeg kestena (*Aesculus hippocastanum* L.), divlje trešnje (*Prunus* spp.) i maka (*Papaver rhoeas* L.) (**Tablice 5, 6, 9, 12, 13**). S obzirom da se radi o samo jednom ili dva analizirana uzorka, potrebna su daljnja istraživanja na većem broju uzoraka monoflorne pčelinje peludi kako bi se potvrdila eventualna specifičnost u sastavu i udjelu ugljikohidrata obzirom na botaničko podrijetlo.

Nakon ugljikohidrata, najzastupljenije komponente u peludi su bjelančevine koje su u analiziranim skupnim uzorcima (**Tablice 2-4**) pronađene u udjelu od minimalno $14,73 \pm 0,18$ % do maksimalno $23,30 \pm 0,16$ %. Rezultati dobiveni u ovom istraživanju sukladni su rezultatima drugih autora (Campos i sur., 2010; Li i sur., 2018; Lilek i sur., 2015; Sattler Gasparotto i sur., 2015). Rezultati koje su objavili Aličić i sur. (2020) za pčelinju pelud s područja Bosne i Hercegovine kreću se u sličnom intervalu, do $16,69 \pm 0,07$ % do $23,66 \pm 0,19$ %. Od analiziranih vrsta monoflorne pčelinje peludi (**Tablice 5-15**) može se vidjeti kako je najveći udio bjelančevina $27,26 \pm 0,32$ % pronađen u peludi divljeg kestena (*Aesculus hippocastanum* L.) (**Tablica 9**). Monoflorna pčelinja pelud facelije (*Phacelia tanacetifolia* Benth.) sadrži $26,32 \pm 0,11$ % bjelančevina (**Tablica 15**) što je u skladu s rezultatima objavljenim u radu autora Lilek i sur. (2015) za istu vrstu monoflorne pčelinje peludi. Najmanje bjelančevina $14,02 \pm 0,08$ % utvrđeno je u monoflornim uzorcima maslačka (*Taraxacum officinale* L.) (**Tablica 8**) i

končare (*Filipendula vulgaris* Moench.) $14,34 \pm 0,29$ % (**Tablica 14**) što prema Campos i sur. (2008.) ne bi zadovoljilo preporuke prema kojima udio bjelančevina u pčelinjoj peludi ne bi trebao biti manji od 15 %. Dobiveni rezultati za maslačak (*Taraxacum officinale*) u skladu su s rezultatima koje su dobili Spulber i sur. (2017).

Udio ukupnih masti u ispitivanim skupnim uzorcima pčelinje peludi (**Tablice 2-4**) kretao se u rasponu od $6,13 \pm 0,18$ % do $18,36 \pm 0,28$ %. Niže vrijednosti ukupnih masti u vrijednosti od 1,8 % do 9 % zabilježili su Li i sur. (2018) za brazilsku, talijansku i arabijsku pčelinju pelud te Sattler Gasparotto i sur. (2015) sa prosječno $3,4 \pm 0,4$ % ukupnih masti u sastavu brazilske pčelinje peludi. Lilek i sur. (2015) za slovensku pelud dobili su rezultate slične rezultatima ovog istraživanja (od $6,07 \pm 2,11$ % do $15,79 \pm 2,11$ %). Pogledaju li se rezultati analize monoflornih vrsta pčelinje peludi (**Tablice 5-15**) vidljivo je da najmanji udio ukupnih masti sadrži monoflorna pelud končare (*Filipendula vulgaris* Moench.) $4,51 \pm 0,11$ % (**Tablica 14**) dok je najviše ukupnih masti pronađeno u uzorcima peludi maslačka (*Taraxacum officinale* L.) $19,04 \pm 0,03$ % (**Tablica 8**). Prema tome, svi analizirani monoflorni uzorci, kao i skupni uzorci pčelinje peludi, zadovoljili su preporuke Međunarodne komisije za med prema kojima minimalni udio masti u pčelinjoj peludi iznosi 1,5 % (Campos i sur., 2008).

Varijacije ovisno o botaničkom podrijetlu ispitivanih uzoraka pčelinje peludi vidljive su i u udjelu pepela. Pčelinja pelud analiziranih uzoraka sadržavala je od $1,15 \pm 0,01$ % pepela u monoflornoj peludi maslačka (*Taraxacum officinale* L.) (**Tablica 8**) do $3,09 \pm 0,03$ % u peludi rašeljke (*Prunus mahaleb* L.) (**Tablica 11**). Gledajući skupne uzorke (**Tablice 2-4**), udio pepela iznosio je od $1,75 \pm 0,00$ % do $2,89 \pm 0,01$ % što je u skladu sa literaturnim podacima (Lilek i sur., 2015.; Sattler i sur., 2015.). Aličić i sur. (2020) zabilježili su nešto veće udjele pepela u pčelinjoj peludi iz Bosne i Hercegovine, od $2,10 \pm 0,03$ % do $3,08 \pm 0,01$ %.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Botaničko podrijetlo ima najveći utjecaj na fizikalno-kemijske karakteristike pčelinje peludi, ali na sastav utječu i drugi čimbenici poput okolišnih i klimatskih uvjeta (relativna vlažnost zraka, sastav tla, vremenski uvjeti).
2. Monoflorna pelud divljeg kestena (*Aesculus hippocastanum* L.) bogata je bjelančevinama i mineralnim tvarima, dok je udio fruktoze i glukoze najniži od svih ispitivanih vrsta monoflorne pčelinje peludi.
3. Monoflornu pelud maslačka (*Taraxacum officinale* L.) karakterizira nizak udio bjelančevina, mineralnih tvari i saharoze, a visok udio masti u odnosu na ostale ispitivane monoflorne vrste pčelinje peludi.
4. Najviši udio saharoze utvrđen je u monoflornoj pčelinoj peludi trnine (*Prunus spinosa* L.) koji također karakterizira nizak udio fruktoze i glukoze.
5. Najviše vrijednosti udjela bjelančevina i fruktoze utvrđeni su kod monoflorne peludi facelije (*Phacelia tanacetifolia* Benth.).
6. Dobiveni rezultati prvi su podaci o fizikalno-kemijskim karakteristikama hrvatske pčelinje peludi, a daljnja istraživanja potrebna su kako bi se utvrdile granične vrijednosti pojedinih parametara kvalitete ovisno o botaničkom podrijetlu.

7. LITERATURA

- Agro Simpa: *Podnica sa skupljačem peludi LR*, Agro Simpa, 2018. <https://www.pcelarska-oprema.hr/proizvodi/podnica-sa-sakupljacem-peludi-lr/> [18.8.2020]
- Aličić D, Flanjak I, Ačkar Đ, Jašić M, Babić J, Šubarić D: Physicochemical properties and antioxidant capacity of bee pollen collected in Tuzla Canton (B&H). *Journal of Central European Agriculture* 21(1):42-50, 2020.
- Bačić T, Sabo M: *Najvažnije medonosne biljke u Hrvatskoj*. Prehrambeno-tehnološki fakultet u Osijeku, Osijek, 2007.
- Barth OM, Freitas AS, Oliveira ES, Silva RA, Maester FM, Andrella RRS, Cardozo, GMBQ: Evaluation of the botanical origin of commercial dry bee pollen load batches using pollen analysis: a proposal for technical standardization. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias* 82(4), 893-902, 2010.
- Bogdanov S: *Pollen: Production, nutrition and health: A review*. Bee Product Science, 2017. <https://www.bee-hexagon.net/english/health/> [1.9.2020.]
- Bogdanov S: *Pollen: Nutrition, Functional Properties, Health*. Bee Products Science, 2016. https://www.researchgate.net/publication/304012096_Pollen_Nutrition_Functional_Properties_Health [1.9.2020.]
- Campos MGR, Frigerio C, Ferreira F, Bogdanov S, Bicudo de Almeida-Muradian L, Szczesna T, Mancebo Y: Pollen composition and standardisation of analytical methods. *Journal of Apicultural Research and Bee World* 47(2):156-163, 2008.
- Campos MGR, Frigerio C, Lopes J, Bogdanov S: What is the future of bee-pollen? *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 2(4):131-144, 2010.
- Denisow B, Denisow-Pietrzyk M: Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96(13):4303-4309, 2016.
- Domínguez-Valhondo D, Bohoyo Gil D, Hernández MT, González-Gómez D: Influence of the commercial processing and floral origin on bioactive and nutritional properties of honeybee-pollen. *International Journal of Food Science and Technology* 46:2204-2211, 2011.

- Isik A, Ozdemir M, Doymaz I: Effect of hot air drying on quality characteristics and physicochemical properties of bee pollen. *Food Science and Technology* 39(1):224-231, 2019.
- Kieliszek M, Piwowarek K, Kot AM, Blazejak S, Chlebowska-Śmigiel A, Wolska I: Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review. *Trends in Food Science & Technology* 71:170-180, 2018.
- Levaković M: Pelud – ljekovita svojstva i primjena. *Diplomski rad*. Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Osijek, 2014.
- Lilek N, Pereyra Gonzalez A, Božič J, Kandolf Borovšak A, Bertonselj J: Chemical composition and content of free tryptophan in Slovenian bee pollen. *Journal of Food and Nutrition Research* 54:323-333, 2015.
- Liolios V, Tananaki C, Dimou M, Kanelis D, Rodopoulou MA, Thrasyvoulou A: Exploring the sugar profile of unifloral bee pollen using high performance liquid chromatography. *Journal of Food and Nutrition Research* 57(4):1336-8672, 2018.
- Liolios V, Tananaki C, Papaioannou A, Kanelis D, Rodopoulou MA, Argenta N: Mineral content in monofloral bee pollen: investigation of the effect of the botanical and geographical origin. *Journal of Food Measurement and Characterization* 13:1674-1682, 2019.
- Li QQ, Wang K, Marcucci MC, Frankland Sawaya ACH, Hu L, Xue XF, Wu LM, Hu FL: Nutrient-rich bee pollen: A treasure trove of active natural metabolites. *Journal of Functional Foods* 49:472-484, 2018.
- Mărgăoan R, Strant M, Varadi A, Topal E, Yücel B, Cornea-Cipcigan M, Campos MG, Vodnar DC: Bee Collected Pollen and Bee Bread: Bioactive Constituents and Health Benefits. *Antioxidants* 8(12):568, 2019.
- Medno: *Sakupljač peludi PVC – ANEL*, Medno, 2016. <https://medno.net/proizvod/sakupljac-peludi-pvc-anel/> [18.8.2020.].
- Sattler Gasparotto JA, Pereira de Melo IL, Granato D, Araújo E, da Silva de Freitas A, Barth OM, Sattler A, Biscudo de Almeida-Muradian L: Impact of origin on bioactive compounds

and nutritional composition of bee pollen from southern Brazil: A screening study. *Food Research International* 77(2):82-91, 2015.

Spulber R, Doğaroğlu M, Băbeanu N, Popa O: Physicochemical characteristics of fresh bee pollen from different botanical origins. *Romanian Biotechnological Letters*, 2017.

Von der Ohe, K: *CMS Celle's Melissopalynological Collection*. Niedersächsisches Landesinstitut für Bienenkunde. Celle, Njemačka, 2003.

Zavod za javno zdravstvo Istarske županije: *Koncentracija peludi alergogenih biljaka u zraku grada Pule u 2015. godini*. Zavod za javno zdravstvo Istarske županije, Pula, 2016.
https://www.istra-istria.hr/fileadmin/dokumenti/upravna_tijela/UO_za_odrzivi_razvoj/180504_Pelud_Pula_2017.pdf [1.8.20120.]