



Kaasrahanud Euroopa Liit,
Euroopa Põllumajanduse Tagatisfond

EESTI MESINDUSKOGU

TalTech KBI Instrumentaalanalüüsi labor
Akadeemia tee 15, 12618, Tallinn

ANALÜÜSI TULEMUSED

Tellijä: Eesti Mesinduskogu
Eesti Mesinike Liit
Müüri 4, kabinet 216, Olustvere, Viljandimaa
Aivar Raudmets 53414067
mesindussekumine@gmail.com

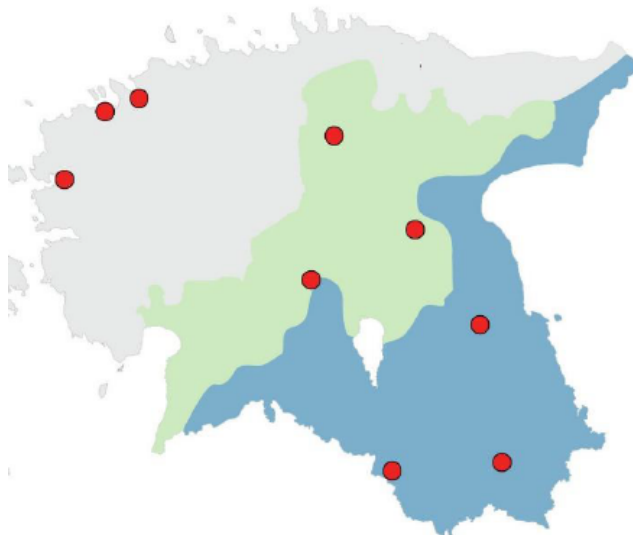
Objekt: Õietolm 37 proovi

Fenoolspermidiinide analüüs

Proovid analüüsiti ajavahemikus 18. juuni – 14. aug. 2026.a.

Mesilasõietolmu proovid

Uuringus osalenud mesilad olid pärit Eesti erinevatest piirkondadest - Lääne-, Kesk- ja Lõuna-Eestist (joonis 1), kokku üheksa mesilagruppi. Piirkondade jaotus jälgib Eesti mullastikuvaldkondi - Lõuna-Eestis esinevad valdavalt kamar-leetmullad, erodeeritud mullad; Kesk-Eestis valdavalt leostunud ja leetunud kamar-karbonaatmullad, kamar-glei- ja lammimullad, aga ka leet- ja soomullad; Lääne-Eestis valdavalt tüüpilised kamar-karbonaatmullad, kamar-glei- ja lammimullad ning põhjaranniku kivised leetmullad¹.



Joonis 1. Mesilasgruppide asukohad (punased punktid), hall ala - Lääne-Eesti, roheline ala – Kesk-Eesti, sinine ala - Lõuna-Eesti.

Mesilasõietolmu proovid saadi Eesti Maaülikooli Põllumajandus- ja keskkonnainstituudist. Enamus proovidest olid kogutud 2024. aasta maist kuni augustini, aprillikuised proovid aga 2025. aastal. Proovid olid EMU Põllumajandus- ja keskkonnainstituudis eelnevalt kuivatatud liikuva õhuvooluga kuivatis 40°C juures ja pakendatud minigrip kottidesse. Laborisse saabunud proovid markeeriti, jahvatati ja pakendati alikvootidena õhukindlalt minigrip kottidesse ning säilitati edaspidiseks analüüsiks külmikus 5 °C juures. Info proovide kohta on esitatud tabelis 1.

Õietolmuproovide värvid varieerusid helekollasest tumehallini. Samuti erinesed jahvatatud proovid ka tekstuurilt. Mõned proovid olid kleepuvamad ja nätskemad.

¹Eesti Maaülikooli Põllumajandus- ja keskkonnainstituudi aruanne. Eesti õietolmu uuring 2024.

Tabel 1. Analüüsitavate õietolmuproovide päritolu ja tähistus

Piirkond	Aprilli I pool*	Aprilli II pool*	Mai II pool	Juuni I pool	Juuni II pool	Juuli II pool	Augusti I pool
Kesk-Eesti			ÕT-05/2-1		ÕT-06/2-1	ÕT-07/2-1	
Kesk-Eesti			ÕT-05/2-2	ÕT-06/1-2	ÕT-06/2-2	ÕT-07/2-2	
Kesk-Eesti			ÕT-05/2-3	ÕT-06/1-3	ÕT-06/2-3	ÕT-07/2-3	
Lõuna-Eesti	ÕT-04/1-4		ÕT-05/2-4	ÕT-06/1-4	ÕT-06/2-4		ÕT-08/1-4
Lõuna-Eesti	ÕT-04/1-5		ÕT-05/2-5	ÕT-06/1-5	ÕT-06/2-5	ÕT-07/2-5	
Lõuna-Eesti			ÕT-05/2-6	ÕT-06/1-6	ÕT-06/2-6	ÕT-07/2-6	
Lääne-Eesti	ÕT-04/1-7	ÕT-04/2-7	ÕT-05/2-7		ÕT-06/2-7	ÕT-07/2-7	
Lääne-Eesti			ÕT-05/2-8		ÕT-06/2-8	ÕT-07/2-8	
Lääne-Eesti/ Põhja-Eesti			ÕT-05/2-9	ÕT-06/1-9	ÕT-06/2-9	ÕT-07/2-9	

*- 2025.a. kogutud proovid

Proovide eeltöötlus

Kuivatatud õietolm jahvatati, mõõdeti niiskusesisaldus. Jahvatatud proovid ekstraheeriti 80%-etanooliga (1 g õietolmu + 10 ml 80%EtOH). Segu loksutati 30 min toatemperatuuril ja sonikeeriti 30 minutit temperatuuril alla 40 °C. Seejärel tsentrifuugiti kiirusel 8000 p/min ning supernatant eraldati tahkest faasist. Kõik katsed viidi läbi kolmes korduses.

Fenoolamiidide identifitseerimine

Fenoolamiidid (fenoolspermidiinid ja -spermiinid) identifitseeriti UV-spektrite, retensiooniaegade (RT) ning MS/MS spektrite järgi. Tulemused on esitatud tabelis 2. Kokku tuvastati 29 fenoolamiidi, milles 2 paari ei lahutunud kromatograafiliselt (1a ja 1b, 10a ja 10b). Põhiliselt sisaldasid õietolmu proovid kofeoüül-, p-kumaroüül-, p-kumaroüül-kofeoüülspermidiine ja p-kumaroüülspermiine.

Tabel 10. Fenoolamiidide identifitseerimine mesilasõietolmu proovides

Piik (P)	t _r (min)	Ühend	[M-H] ⁻ (m/z)	MS ² diagnostilised fragmendid (m/z)
1-a	16,80	di-p-kumaroüül-kofeoüülspermiin	655	399, 510 , 519 , 520, 535
1-b	16,80	di-p-kumaroüül-hüdroksüferuoüülspermiin	685	399, 510, 519 , 520, 535
2	17,20	tundmatu fenoolamiidne ühend	791	134 , 135, 258 , 259, 274 , 275, 395
3	17,95	trikofeoüülspermidiin isomeer	630	382, 469 , 470, 494 , 495, 540
4	18,30	trikofeoüülspermidiin isomeer	630	469 , 470, 494 , 495, 540

5	18,40	trikofeoüülspermiin isomeer	630	469 , 470, 494 , 495, 540
6	19,00	tundmatu fenoolamiidne ühend	760	378 , 379
7	19,75	kofeoüül-feruoüül-hüdrosüferuoüülspermiin	734	543 , 544, 545, 554, 555, 568 , 569, 581
8	19,75	p-kumaroüül-dikofeoüülspermiin isomeer	614	412, 453 , 469, 478, 479 , 494 , 521
9	20,00	p-kumaroüül-dikofeoüülspermiin isomeer	614	412, 453 , 454, 478 , 494 , 522
10-a	20,00	tetrakofeoüülspermiin isomeer	850	605, 635, 687 , 688, 713 , 714, 739
10-b	20,00	trikofeoüül-hüdrosüferuoüülspermiin isomeer	880	716, 717 , 718, 743 , 744, 793
11	20,25	p-kumaroüül-diferuoüülspermiin	644	382, 508 , 509, 556
12	20,25	trikofeoüül-hüdrosüferuoüülspermiin isomeer	880	556, 557, 717 , 718, 743 , 744
13	20,35	tetrakofeoüülspermiin isomeer	850	552, 687 , 688, 713 , 714
14-a	20,75	di-p-kumaroüül-kofeoüülspermiin isomeer	599	359, 412, 463, 464, 478 , 479
14-b	20,75	di-p-kumaroüül-hüdrosüferuoüülspermiin	629	463, 483, 492 , 493, 508 , 509, 532
15	20,75	p-kumaroüül-di-kofeoüül-hüdrosüferuoüülspermiin isomeer	864	699, 702 , 703, 718 , 719, 727 , 728
16	21,25	di-p-kumaroüül-kofeoüülspermiin isomeer	599	394, 453, 462 , 463, 464, 478
17-a	21,45	dikofeoüül-feruoüül-hüdrosüferuoüülspermiin	894	729, 730, 731 , 732, 757, 758 , 759
17-b	21,45	di-p-kumaroüül-kofeoüülspermiin isomeer	599	359 , 360, 412, 413, 437 , 452, 478 , 479
18-a	21,50	tri-p-kumaroüülspermiin isomeer	583	343, 344, 393, 394, 462 , 463, 502, 503
18-b	21,50	p-kumaroüül-di-kofeoüül-hüdrosüferuoüülspermiin isomeer	864	566, 592, 593, 702 , 703, 727 , 728
19	22,00	tri-p-kumaroüülspermiin isomeer	583	343, 344, 394, 462 , 463, 502
20	22,50	tri-p-kumaroüülspermiin isomeer	583	343, 394, 395, 462 , 463, 502
21	23,00	tri-p-kumaroüülspermiin isomeer	583	343, 394, 395, 462 , 463, 502
22	23,00	di-p-kumaroüül-feruoüülspermiin	671	496, 522 , 523, 536 , 582, 583
23	23,95	tetra-p-kumaroüülspermiin isomeer	785	546, 547, 628, 629, 665 , 666, 667
24	24,30	tetra-p-kumaroüülspermiin isomeer	785	546, 547, 628, 629, 640, 665 , 666, 667
25	24,65	tetra-p-kumaroüülspermiin isomeer	785	546, 547, 628, 629, 640, 665 , 666, 667
26	24,75	tetra-p-kumaroüülspermiin isomeer	785	546, 547, 628, 629, 640, 665 , 666, 667
27	25,00	tetra-p-kumaroüülspermiin isomeer	785	546, 547, 628, 629, 640, 665 , 666, 667

Fenoolamiidide kvantitatiivne analüüs

Fenoolamiidide sisaldused õietolmu proovides määrati kasutades HPLC-DAD. Kvantifitseerimiseks kasutati standardainena *p*-kumaarhapet. Tulemused väljendati milligrammides *p*-kumaarhappe ekvivalenti g kuiva proovi kohta (mg *p*-CAE/g)

Tulemused on esitatud tabelites 3 - 5.

Pik	RT, min	ÕT-04/1-04	ÕT-04/1-05	ÕT-04/1-07	ÕT-04/2-07	ÕT-05/2-1	ÕT-05/2-2	ÕT-05/2-3	ÕT-05/2-4	ÕT-05/2-5	ÕT-05/2-6	ÕT-05/2-7	ÕT-05/2-8	ÕT-05/2-9
P1	16,80	–	–	–	–	–	0,11 ± 0,01	0,79 ± 0,03	0,47 ± 0,06	0,67 ± 0,04	–	–	–	0,12 ± 0,01
P2	17,20	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
P3	17,95	0,36 ± 0,01	0,88 ± 0,08	<LoQ	0,40 ± 0,04	–	–	0,39 ± 0,01	–	–	0,12 ± 0,01	–	–	–
P4	18,30	1,58 ± 0,02	3,92 ± 0,22	–	–	–	–	–	–	–	0,53 ± 0,03	–	–	–
P5	18,40	–	–	0,28 ± 0,02	4,47 ± 0,40	0,06 ± 0,01	–	3,03 ± 0,08	–	–	–	0,30 ± 0,02	–	–
P6	19,00	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
P7	19,75	–	–	–	–	0,27 ± 0,03	–	–	–	–	0,41 ± 0,01	0,13 ± 0,02	–	–
P8	19,75	1,29 ± 0,05	–	–	<LoQ	–	–	–	–	–	–	–	–	–
P9	20,00	2,35 ± 0,05	0,33 ± 0,01	–	0,20 ± 0,02	–	–	2,57 ± 0,01	–	–	0,34 ± 0,01	0,27 ± 0,03	–	–
P10	20,00	–	–	–	–	–	0,11 ± 0,01	–	0,06 ± 0,01	0,44 ± 0,01	–	–	–	0,14 ± 0,02
P11	20,25	–	0,11 ± 0,02	–	0,05 ± 0,01	–	–	–	–	–	–	–	–	–
P12	20,25	–	–	–	–	–	–	–	0,87 ± 0,12	5,72 ± 0,38	–	–	–	–
P13	20,35	–	–	–	–	–	0,70 ± 0,02	3,76 ± 0,15	–	–	0,40 ± 0,01	0,26 ± 0,03	–	0,62 ± 0,04
P14	20,75	0,78 ± 0,04	–	–	–	0,14 ± 0,01	–	–	0,14 ± 0,02	–	–	0,07 ± 0,01	0,04 ± 0,01	–
P15	20,75	–	–	–	–	–	0,04 ± 0,01	0,55 ± 0,01	–	0,24 ± 0,02	0,09 ± 0,01	–	–	–
P16	21,25	–	–	–	0,03 ± 0,01	0,43 ± 0,03	0,09 ± 0,01	2,49 ± 0,03	0,97 ± 0,14	0,34 ± 0,04	0,30 ± 0,01	0,49 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,23 ± 0,02
P17	21,45	1,85 ± 0,01	–	–	<LoQ	–	0,09 ± 0,01	1,22 ± 0,01	0,69 ± 0,08	0,39 ± 0,03	–	–	0,13 ± 0,02	–
P18	21,50	–	–	–	–	0,12 ± 0,01	0,14 ± 0,01	–	–	0,55 ± 0,05	0,30 ± 0,01	0,23 ± 0,01	–	0,14 ± 0,01
P19	22,00	–	–	–	–	0,22 ± 0,01	–	–	0,14 ± 0,03	–	0,28 ± 0,01	0,37 ± 0,01	–	–
P20	22,50	–	–	–	–	0,40 ± 0,02	–	–	0,55 ± 0,08	–	0,63 ± 0,01	0,81 ± 0,05	0,28 ± 0,03	–
P21	23,00	3,07 ± 0,02	–	–	–	2,56 ± 0,16	0,32 ± 0,01	2,06 ± 0,04	3,35 ± 0,26	–	3,68 ± 0,02	6,14 ± 0,58	0,82 ± 0,09	0,23 ± 0,02
P22	23,00	–	<LoQ	–	0,03 ± 0,01	–	–	–	–	–	–	–	–	–
P23	23,95	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,10 ± 0,01	–	–	–
P24	24,30	–	–	–	–	–	0,03 ± 0,01	–	–	–	0,20 ± 0,01	–	–	–
P25	24,65	–	–	–	–	–	0,03 ± 0,01	–	–	–	0,21 ± 0,01	–	–	–
P26	24,75	–	–	–	–	–	–	–	–	–	<LoQ	–	–	–
P27	25,00	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Summarne sisaldus		11,29	5,23	0,28	5,18	4,20	1,66	16,86	7,83	8,35	7,59	9,08	1,46	1,48

Tabel 4. ÕT-06/1-2 kuni ÕT-06/2-7 tuvastatud fenoolamiidide kvantitatiivsed tulemused

Piik	RT, min	ÕT-06/1-2	ÕT-06/1-3	ÕT-06/1-4	ÕT-06/1-5	ÕT-06/1-6	ÕT-06/1-9	ÕT-06/2-1	ÕT-06/2-2	ÕT-06/2-3	ÕT-06/2-4	ÕT-06/2-5	ÕT-06/2-6	ÕT-06/2-7
P1	16,80	–	0,50 ± 0,03	–	–	–	0,18 ± 0,01	0,35 ± 0,02	0,20 ± 0,04	0,08 ± 0,01	0,02 ± 0,01	–	0,17 ± 0,03	0,41 ± 0,07
P2	17,20	–	–	–	–	0,25 ± 0,01	0,15 ± 0,01	–	0,08 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,34 ± 0,04	0,20 ± 0,01	0,32 ± 0,05	0,15 ± 0,02
P3	17,95	–	–	–	–	0,05 ± 0,01	–	–	0,02 ± 0,01	–	0,10 ± 0,02	–	–	–
P4	18,30	1,73 ± 0,09	–	–	–	–	–	–	0,25 ± 0,04	–	0,48 ± 0,05	0,12 ± 0,01	–	0,47 ± 0,06
P5	18,40	–	–	–	–	0,18 ± 0,01	–	2,30 ± 0,04	–	–	–	–	–	–
P6	19,00	–	–	–	–	0,83 ± 0,03	0,38 ± 0,01	–	–	–	0,94 ± 0,10	0,72 ± 0,03	0,70 ± 0,10	0,11 ± 0,02
P7	19,75	–	0,57 ± 0,03	–	–	–	–	–	–	0,12 ± 0,02	–	–	–	–
P8	19,75	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,08 ± 0,02	–	–	–
P9	20,00	0,04 ± 0,01	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,02 ± 0,01
P10	20,00	–	–	–	–	–	–	0,29 ± 0,01	0,23 ± 0,03	0,17 ± 0,01	0,21 ± 0,02	–	–	–
P11	20,25	0,02 ± 0,01	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
P12	20,25	–	–	–	–	–	0,47 ± 0,04	–	–	–	–	–	0,89 ± 0,08	0,77 ± 0,17
P13	20,35	–	2,79 ± 0,15	–	0,10 ± 0,01	–	–	2,17 ± 0,04	0,97 ± 0,15	0,88 ± 0,05	0,36 ± 0,08	–	–	–
P14	20,75	–	–	–	–	0,16 ± 0,01	–	–	–	0,17 ± 0,02	–	–	0,08 ± 0,02	–
P15	20,75	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,05 ± 0,02
P16	21,25	–	0,12 ± 0,03	0,39 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,41 ± 0,02	0,18 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,25 ± 0,06	0,40 ± 0,04	0,28 ± 0,06	0,12 ± 0,02	0,37 ± 0,07	0,36 ± 0,06
P17	21,45	–	0,10 ± 0,02	0,60 ± 0,01	–	0,91 ± 0,04	–	0,09 ± 0,01	0,30 ± 0,06	0,70 ± 0,03	0,22 ± 0,05	–	0,44 ± 0,06	0,22 ± 0,02
P18	21,50	–	0,13 ± 0,01	–	0,13 ± 0,01	–	0,17 ± 0,01	–	–	–	–	0,12 ± 0,02	–	–
P19	22,00	–	–	0,26 ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,24 ± 0,01	–	–	0,06 ± 0,02	0,17 ± 0,01	–	0,13 ± 0,02	0,07 ± 0,01	0,11 ± 0,01
P20	22,50	–	–	1,09 ± 0,01	1,11 ± 0,03	0,54 ± 0,02	0,33 ± 0,01	–	0,22 ± 0,03	0,36 ± 0,03	–	0,40 ± 0,01	0,20 ± 0,03	0,31 ± 0,04
P21	23,00	–	0,14 ± 0,01	10,37 ± 0,49	10,77 ± 0,17	3,43 ± 0,10	2,81 ± 0,12	–	0,65 ± 0,12	0,88 ± 0,05	0,54 ± 0,06	4,18 ± 0,24	0,77 ± 0,11	0,90 ± 0,11
P22	23,00	0,07 ± 0,01	–	–	–	–	–	0,03 ± 0,01	–	–	–	–	–	–
P23	23,95	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
P24	24,30	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
P25	24,65	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
P26	24,75	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
P27	25,00	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Summarne sisaldus		1,85	4,33	12,71	12,49	7,00	4,66	5,34	3,22	4,05	3,57	6,00	4,00	3,89

Tabel 5. ÕT-06/2-8 kuni ÕT-08/1-4 tuvastatud fenoolamiidide kvantitatiivsed tulemused

Piik	RT, min	ÕT-06/2-8	ÕT-06/2-9	ÕT-07/2-1	ÕT-07/2-2	ÕT-07/2-3	ÕT-07/2-5	ÕT-07/2-6	ÕT-07/2-7	ÕT-07/2-8	ÕT-07/2-9	ÕT-08/1-4
P1	16,80	–	–	–	–	–	0,89 ± 0,07	–	0,17 ± 0,03	–	0,04 ± 0,01	–
P2	17,20	–	0,24 ± 0,02	–	–	–	–	–	–	–	–	–
P3	17,95	–	–	0,57 ± 0,02	0,03 ± 0,01	–	–	–	0,04 ± 0,01	–	–	0,03 ± 0,01
P4	18,30	0,03 ± 0,01	–	3,68 ± 0,29	0,09 ± 0,02	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,04	0,04 ± 0,01	0,17 ± 0,03	–	–	0,23 ± 0,01
P5	18,40	–	–	–	–	–	–	0,06 ± 0,01	–	–	0,28 ± 0,02	–
P6	19,00	–	0,84 ± 0,06	–	–	–	–	–	–	–	–	–
P7	19,75	–	–	–	<LoQ	–	–	–	–	–	–	–
P8	19,75	–	–	0,06 ± 0,01	–	–	–	0,04 ± 0,01	–	–	–	<LoQ
P9	20,00	–	–	0,16 ± 0,02	–	–	–	<LoQ	–	–	–	0,37 ± 0,01
P10	20,00	–	–	–	–	–	0,39 ± 0,03	–	0,14 ± 0,03	–	–	–
P11	20,25	–	–	0,08 ± 0,01	0,24 ± 0,02	0,60 ± 0,06	–	–	–	–	0,07 ± 0,01	–
P12	20,25	–	–	–	–	0,57 ± 0,08	–	<LoQ	–	–	–	–
P13	20,35	–	–	–	–	–	3,88 ± 0,17	–	0,63 ± 0,11	–	–	–
P14	20,75	0,08 ± 0,01	–	–	–	–	–	0,03 ± 0,02	–	–	–	–
P15	20,75	–	–	–	–	–	0,19 ± 0,07	–	0,08 ± 0,02	–	–	–
P16	21,25	0,27 ± 0,01	0,14 ± 0,01	<LoQ	–	<LoQ	0,95 ± 0,11	–	0,13 ± 0,04	0,02 ± 0,01	<LoQ	–
P17	21,45	–	0,18 ± 0,01	<LoQ	–	<LoQ	0,82 ± 0,09	0,25 ± 0,02	–	–	–	–
P18	21,50	0,17 ± 0,01	–	–	–	–	–	0,10 ± 0,02	0,34 ± 0,05	0,02 ± 0,01	0,10 ± 0,02	–
P19	22,00	0,37 ± 0,01	0,19 ± 0,01	–	–	–	0,09 ± 0,04	–	0,18 ± 0,03	0,03 ± 0,01	0,09 ± 0,01	–
P20	22,50	0,87 ± 0,02	0,48 ± 0,01	–	–	–	0,77 ± 0,01	0,75 ± 0,07	0,53 ± 0,08	0,20 ± 0,03	0,38 ± 0,03	–
P21	23,00	3,98 ± 0,13	3,88 ± 0,15	–	–	–	2,32 ± 0,02	–	2,80 ± 0,19	0,30 ± 0,04	2,52 ± 0,25	–
P22	23,00	–	–	0,04 ± 0,01	<LoQ	–	–	–	–	–	–	–
P23	23,95	–	–	<LoQ	0,06 ± 0,01	–	–	–	0,19 ± 0,05	0,03 ± 0,01	0,18 ± 0,01	–
P24	24,30	–	–	0,08 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,01 ± 0,01	–	0,06 ± 0,01	0,32 ± 0,06	0,08 ± 0,01	0,43 ± 0,02	–
P25	24,65	–	–	0,10 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,02 ± 0,01	–	0,06 ± 0,01	0,33 ± 0,07	0,07 ± 0,01	0,47 ± 0,04	–
P26	24,75	–	–	0,14 ± 0,02	0,20 ± 0,01	0,02 ± 0,01	–	0,08 ± 0,01	0,47 ± 0,08	0,08 ± 0,01	0,51 ± 0,01	–
P27	25,00	–	–	0,29 ± 0,02	0,36 ± 0,01	0,07 ± 0,01	–	0,20 ± 0,02	0,91 ± 0,17	0,17 ± 0,02	1,79 ± 0,18	<LoQ
Summarne sisaldus		5,76	5,95	5,21	1,30	1,41	10,41	1,66	7,41	1,00	6,87	0,63

Tabelis 6 on toodud summaarsed fenoolspermidiinide sisaldused ja standardhälbed (SH) nii milligrammides p-kumaarhappe ekvivalenti grammi õietolmu kohta (mg p-CAE/g) kui ka ümber arvutatuna milligrammides p-kumaroülspermiidiini* grammi õietolmu kohta (mg/g).

p-Kumaarhappe kasutamine standardainena on fenoolamiidide spektrofotomeetrilisel või kromatograafilisel kvantifitseerimisel väga levinud, kuna p-kumaarhappe on fenoolamiidide (näiteks p-kumaroülspermiidiin jt) peamine ehituskivi ja struktuurselt kõige sarnasem tüvituum. Et arvutada p-kumaarhappe ekvivalentides saadud tulemus ümber tegelikuks fenoolamiidide/spermiidiinide sisalduseks (mg/g), tuleb võtta arvesse molaarmasside suhet ehk kasutada ümberarvutustegurit 1,185.

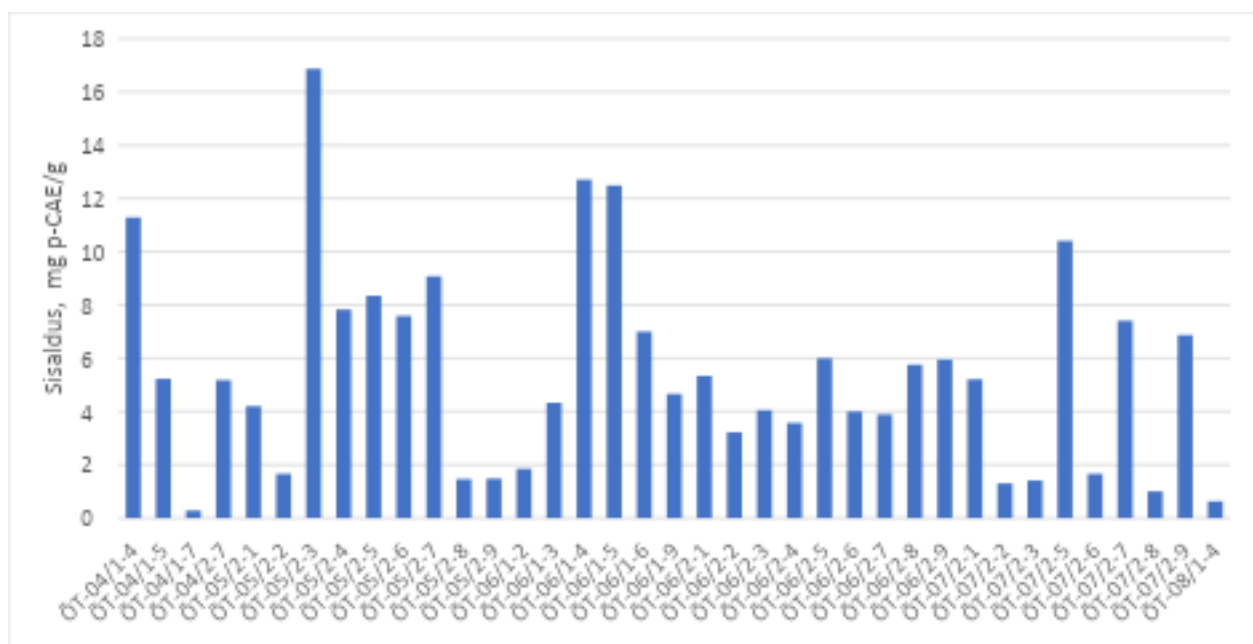
Tabel 6.

Proovi tähis	Fenoolspermidiinid/- spermiin, mg p-CAE/g	SH, ± mg p-CAE/g	Fenoolspermidiinid*, mg/g
ÕT-04/1-4	11,29	0,03	13,38
ÕT-04/1-5	5,23	0,08	6,20
ÕT-04/1-7	0,28	0,02	0,33
ÕT-04/2-7	5,18	0,08	6,14
ÕT-05/2-1	4,20	0,04	4,98
ÕT-05/2-2	1,66	0,01	1,97
ÕT-05/2-3	16,86	0,04	19,98
ÕT-05/2-4	7,83	0,09	9,28
ÕT-05/2-5	8,35	0,08	9,89
ÕT-05/2-6	7,59	0,01	8,99
ÕT-05/2-7	9,08	0,08	10,76
ÕT-05/2-8	1,46	0,03	1,73
ÕT-05/2-9	1,48	0,02	1,75
ÕT-06/1-2	1,85	0,03	2,19
ÕT-06/1-3	4,33	0,04	5,13
ÕT-06/1-4	12,71	0,11	15,06
ÕT-06/1-5	12,49	0,04	14,80
ÕT-06/1-6	7,00	0,03	8,30
ÕT-06/1-9	4,66	0,03	5,52
ÕT-06/2-1	5,34	0,02	6,33
ÕT-06/2-2	3,22	0,05	3,82
ÕT-06/2-3	4,05	0,03	4,80
ÕT-06/2-4	3,57	0,05	4,23
ÕT-06/2-5	6,00	0,05	7,11
ÕT-06/2-6	4,00	0,07	4,74

ÕT-06/2-7	3,89	0,06	4,61
ÕT-06/2-8	5,76	0,03	6,83
ÕT-06/2-9	5,95	0,04	7,05
ÕT-07/2-1	5,21	0,04	6,17
ÕT-07/2-2	1,30	0,01	1,54
ÕT-07/2-3	1,41	0,02	1,67
ÕT-07/2-5	10,41	0,07	12,34
ÕT-07/2-6	1,66	0,02	1,97
ÕT-07/2-7	7,41	0,07	8,78
ÕT-07/2-8	1,00	0,01	1,19
ÕT-07/2-9	6,87	0,05	8,14
ÕT-08/1-4	0,63	0,10	0,75
Keskmine	5,44	0,05	6,44
Vahemik	0,28 – 16,86		0,33 – 19,98

Toodud tabelite (tabelid 3, 4, 5 ja 10) põhjal saab teha põhjaliku analüüsi mesilasõietolmu proovide fenoolamiidse koostise, profiilide mitmekesisuse ja kvantitatiivsete erinevuste kohta.

Fenoolamiidide kogusisaldus varieerub prooviseeriade lõikes väga suures ulatuses, mida illustreerib ilmekamalt joonis 2.



Joonis 2. Tabeli 6 andmete visualiseerimine

Kõige kõrgem fenoolamiidide sisaldus tuvastati proovis ÕT-05/2-3 (16,86 mg CAE/g), millele järgnevad ÕT-06/1-4 (12,71 mg CAE/g), ÕT-06/1-5 (12,49 mg CAE/g), ÕT-04/1-04 (11,29 mg CAE/g) ja ÕT-07/2-5 (10,41 mg CAE/g). Väikseim fenoolamiidide sisaldus registreeriti proovides ÕT-04/1-07 (0,28 mg CAE/g) ja ÕT-08/1-4 (0,63 mg CAE/g).

Saadud tulemuste võrdlemisel teaduskirjandusega nähtub, et El Ghouizi jt uuringus² saadi Maroko värske mesilaste õietolmu spermidiini derivaatide keskmiseks sisalduseks 1,75 mg/g. Kvantifitseeritud ühendite seas esines kõige suuremas koguses tri-p-kumaroüülspermidiini. Käesolevas töös analüüsitud 37 kuivatatud õietolmu proovi puhul oli spermidiinide keskmine sisaldus märgatavalt kõrgem – 6,44 mg/g, varieerudes laias vahemikus 0,28–16,86 mg/g. Tulemuste erinevust selgitavad eelkõige erinevused taimses ja geograafilises päritolus ning proovide eeltöötlustes.

Tabeli 10 MS/MS identifitseerimise andmete sidumine kvantitatiivsete tulemustega toob välja selged ühendirühmad ja dominantsed ühendid erinevates õietolmu proovides.

- 1) Tri-p-kumaroüülspermidiini isomeerid (eriti P21, m/z 583). Piik P21 on üks levinumaid ja valitsevamaid ühendeid kogu uuringus. See moodustab lõviosa kogusisaldusest näiteks proovides ÕT-06/1-4 ($10,37 \pm 0,49$), ÕT-06/1-5 ($10,77 \pm 0,17$) ja ÕT-05/2-7 ($6,14 \pm 0,58$).
- 2) Trikofoöülspermidiini isomeerid (P3, P4, P5, m/z 630). Need ühendid määravad profiili mitmetes lühema retentsioonijaga (RT 17,95–18,40 min) proovides. Näiteks ÕT-04/1-05 sisaldab olulisel määral piiki P4 ($3,92 \pm 0,22$) ning ÕT-04/2-07 piiki P5 ($4,47 \pm 0,40$).
- 3) Spermiini derivaadid.
Tetrakofoöülspermiin (P13, m/z 850) on peamine komponent proovides ÕT-05/2-3 ($3,76 \pm 0,15$) ja ÕT-07/2-5 ($3,88 \pm 0,17$).
Trikofoöül-hüdroksüferuoülspermiin (P12, m/z 880) moodustab suure osa proovist ÕT-05/2-5 ($5,72 \pm 0,38$).
Tetra-p-kumaroüülspermiini isomeerid (P23–P27, m/z 785). Neid pikema retentsioonijaga (RT 23,95–25,00 min) ühendeid esineb märkimisväärselt vaid ÕT-07 seeria proovides (nt ÕT-07/2-9 summaarne P23–P27 osa on $\sim 3,38$), samal ajal kui ÕT-04, ÕT-05 ja ÕT-06 seeriast puuduvad need peaaegu täielikult.

Proovide keemilise profiili spetsiifilisus

1. Botaaniline ja geograafiline variatsioon. Suured erinevused fenoolamiidide kontsentratsioonides ning konkreetsete isomeerirühmade (spermidiini vs spermiini derivaadid) ülekaalus viitavad selgelt sellele, et proovid pärinevad erinevatelt taimeliikidelt või erinevatest korjeperioodidest.
2. Klasterdumine. ÕT-06 seeria (eriti ÕT-06/1-4 ja ÕT-06/1-5) on iseloomulik kõrge spermidiini derivaadi P21 sisalduse poolest, mis moodustab üle 80% kogu nende

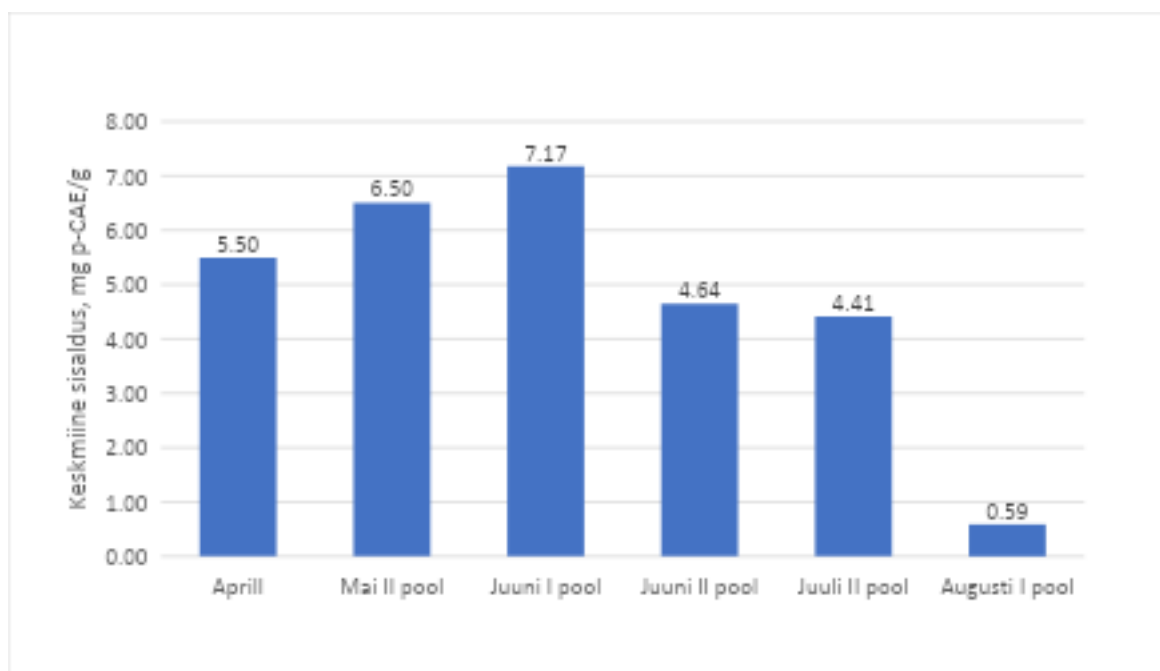
² El Ghouizi, A., El Menyiy, N., I Falcao, S., Vilas-Boas, M., Lyoussi, B. Chemical composition, antioxidant activity, and diuretic effect of Moroccan fresh bee pollen in rats. *Vet World*. 2020 3;13(7):1251–1261. doi: 10.14202/vetworld.2020.1251-1261

proovide fenoolamiididest. Seevastu ÕT-05 seeria näitab teistest mitmekesisemat spermiini ja spermidiini segaprofiili (kõrged P1, P5, P9, P12, P13 ja P21).

3. Määratud ja tundmatud ühendid. Suurem osa ühenditest on edukalt identifitseeritud hüdroksükaneelhappe amiidide klassi kuuluvate spermidiini ja spermiini konjugaatidena. Samas piigid P2 (m/z 791) ja P6 (m/z 760) jäävad tabeli 10 alusel veel täpsema struktuurita ("tundmatu fenoolamiidne ühend"), kuigi neid esineb mitmes proovis konstantselt madalas kontsentratsioonis.

Võrdlus korjeaja lõikes

Jooniselt 3 nähtub fenoolamiidide keskmise sisalduse selge sesoonne dünaamika: kontsentratsioon suureneb kevadel, saavutab haripunkti juuni esimeses pooles ning langeb suve lõpuks drastiliselt.

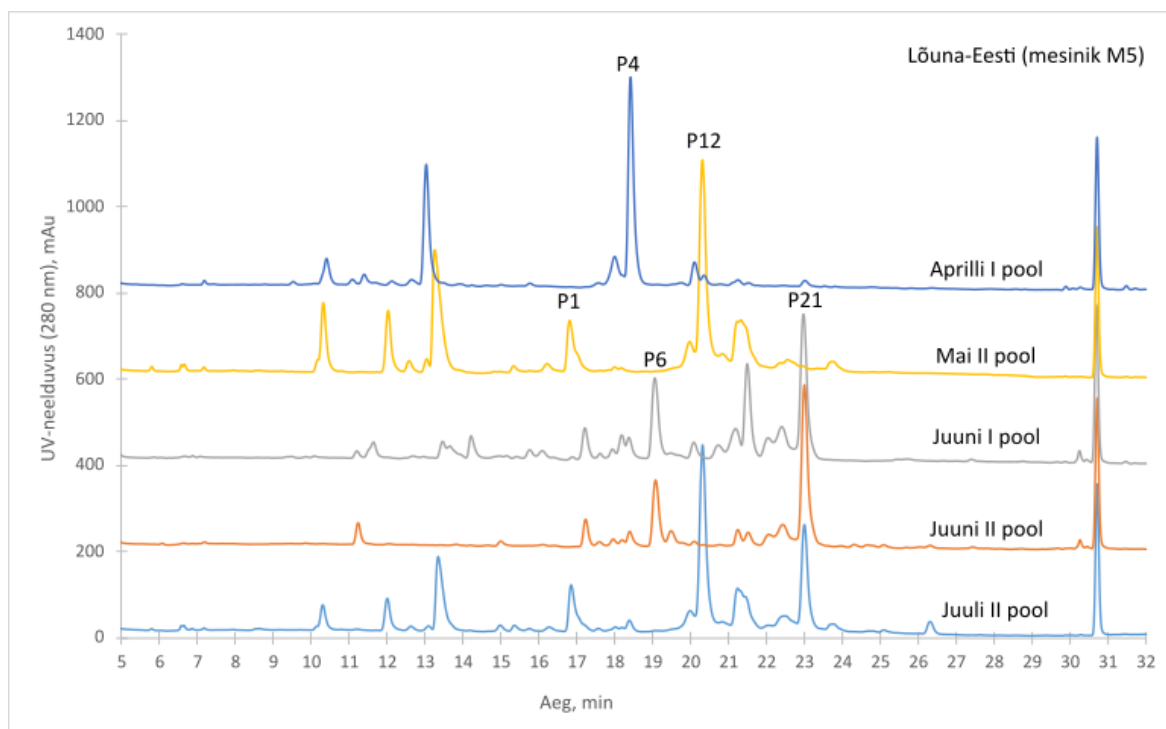


Joonis 3. Fenoolspermidiinide dünaamika õietolmus korjeaja lõikes

1. Kevadine kasvufaas ja maksimumtase. Fenoolamiidide sisaldus suureneb varakevadest suve alguseni ligi 30%, tõustes aprilli väärtuselt 5,50 mg/g maksimumini juuni I pooles (7,17 mg/g).
2. Langustrend suve keskel. Juuni teises pooles toimub järsk kukkumine 4,64 mg/g tasemele (langus ~35% võrreldes tipuga). Juuli II pooleks püsib tase suhteliselt stabiilsena (4,41 mg/g).
3. Kriitiline vähenemine augustis. Augusti alguseks langeb sisaldus miinimumini (0,59+ mg/g). Suurima (juuni I pool) ja väikseima (augusti I pool) kontsentratsiooni erinevus on enam kui 12-kordne. Siiski ei saa sellest teha üldistavat järeldust, kuna augustikuust oli analüüsimiseks vaid üks proov.

Erinevate taimede õietolmudel on drastiliselt erinev fenoolspermiidiinide profiil. Tuultolmlejad ja kõrrelised ning puud (nt kask, lepp, sarapuu, mänd) sisaldavad teatud tüüpi konjugaate, mis kaitsevad õietolmu pikamaalennul. Õistaimed ja korjetaimed (nt raps, ristik, võilill, kanarbik, puuviljad) annavad erinevate fenoolsete hapete kombinatsiooni (rohkem kofeoüül- või feroüülspermiidiine).

Joonisel 4 on näitena toodud Lõuna-Eesti mesila õietolmude (ÕT-04/1-5 – ÕT-07/2-5) kromatogrammid/sõrmejäljed.



Joonis 4. HPLC-DAD kromatograafilised profiilid fenoolspermiidiinide jälgimiseks kasutatud lainepikkusel 280 nm.

Fenoolspermiidiinid ja -spermiinid: õietolmu väärtuslikud terviseühendid

Õietolmus leiduvad fenoolspermiidiinid ja -spermiinid (nt tri-p-kumaroüülspermiidiin) on erilised liitühendid, mis ühendavad endas kahe tugeva bioloogilise aine parimad omadused: naturaalsed polüamiinid ja taimsed antioksüdandid. Neid ühendeid saab inimorganism eelkõige täisväärtuslikust toidust ning õietolm on nende üks rikkalikumaid looduslikke allikaid.

Miks on need ühendid tervisele kasulikud ja miks peaks õietolmu tarbima?

1. Rakkude noorendamine ja isepuhastus (autofaagia). Spermidiin on teaduses tuntud kui "nooruse säilitaja". See käivitab rakkudes loomuliku puhastusprotsessi, kus rakk vabaneb vanadest ja kahjustunud osadest. See aitab hoida kudesid värskena, aeglustada vananemisprotsesse ja kaitsta organismi ajutegevuse taandarengu eest.
2. Tugev kaitse põletike ja rakukahjustuste vastu. Ühendisse kuuluvad fenoolsed happed toimivad võimsate antioksidantidena. Need kaitsevad keha rakke oksüdatiivse stressi ja krooniliste põletike eest, mis on paljude tänapäevaste haiguste ja enneaegse väsimuse põhjustajaks.
3. Südame ja veresoonkonna tugi. Fenoolspermidiinid aitavad kaitsta veresoonte seinu ja vähendada nn halva kolesterooli kahjulikku mõju, toetades seeläbi südame tervist ja normaalset vereringet.
4. Immunsüsteemi ja energiavarude taastamine. Need ained toetavad rakutasandil energia tootmist ja immuunrakkude tööd, aidates kehal paremini vastu pidada viiruste hooajal, taastuda haigustest või füüsilisest koormusest.
5. Prebiootiline mõju. Taimsed fenoolühendid toimivad soolestikus mikroobioomi tasakaalustajatena, soodustades kasulike bakterite kasvu ja kaitstes soolebarjääri terviklikkust.

Sõnum tarbijale: Õietolmu kõrge fenoolspermidiinide sisaldus teeb sellest erakordse loodusliku funktsionaalse toidu – see ei ole lihtsalt vitamiinipomm, vaid tõeline "rakuhooldusvahend". See annab mesinikule tugeva argumentatsiooni selgitamiseks tarbijale, et kohaliku õietolmu igapäevane tarbimine on lihtne ja looduslik viis toetada oma keha nooruslikkust, vastupidavust ning üldist elujõudu.

Merike Vaher

Instrumentaalanalüüsi labori juhataja

LISA

Kirjanduse ülevaade

Mesilasõietolmu manustamise positiivset mõju on kirjeldatud prostatiidi, ateroskleroosi, gastroenteriidi ennetamisel ja hingamisteede haiguste korral, allergiate vähendamisel ning südameveresoonkonna ja seedesüsteemi funktsioonide toetamisel, immuunsüsteemi toetamisel ning vananemise aeglustamisel³. Kõige olulisemateks farmakoloogilise aktiivsusega ühenditeks peetakse õietolmus asendamatuid rasvhappeid, fosfolipiide, fütosterioole ja polüfenoole, tänu millele on õietolmul märkimisväärne põletikuvastane toime, mille tugevust on mõningates uuringutes võrreldud teatud mittesteroidsete põletikuvastaste ravimitega. Toime seisneb peamiselt tsüklooksügenaasi ja lipooksügenaasi aktiivsuse pärssimise mehhanismis. Need ensüümid katalüüsivad arahhidoonhappe muundamist prostaglandiinideks ning leukotrienideks ning põhjustavad ägedaid ja kroonilisi põletikulisi protsesse kudedes^{4,5}. Lisaks põletikuvastasele toimele on kirjeldatud, et õietolmul on antimikroobne, seenevastane, antioksüdatiivne, kiirguskaitsev, maksakaitsev ning keemiliste kahjustuste eest kaitsev toime³. Õietolmus leiduvad fenoolsed ühendid pakuvad suurt huvi ravimitööstusele, kuna neil on oluline roll haiguste ennetuses, eriti neurodegeneratiivsete ning südame- ja veresoonkonna haiguste puhul, mis on otseselt seotud oksüdatiivsete kahjustustega⁶. Oksüdatsioon on keemiline reaktsioon, mille käigus toimub elektronide ülekandumine oksüdeerivale reagentile, mille käigus võivad vabaneda radikaalid, mis võivad alata rakke kahjustavaid ahelreaktsioone⁷. Fenoolamiide, mida esineb õietolmus külluslikumalt võrreldes flavonoidide ning fenoolhapetega, on kirjeldatud kui mittepeptiidsete antagonistide aktiivsusega ühendeid tahhükiniini neurokiniin-1 (NK1) retseptorite suhtes, mis viitab nende potentsiaalsele bioaktiivsusele kesknärvisüsteemi signaaliradades, sh meeleolu ja stressiregulatsiooniga seotud protsessides⁸. Kirjanduses on samuti kirjeldatud *in vitro* ja *in vivo* uuringutel põhinevaid võimalikke antioksüdantseid, põletikuvastaseid, neuroprotektiivseid, allergiavastaseid, antiobesitaarseid, antiaterosklerootilisi,

³ A. Pascoal, S. Rodrigues, A. Teixeira, X. Feás, and L. M. Estevinho, "Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory," *Food and Chemical Toxicology*, vol. 63, pp. 233–239, 2014, doi: 10.1016/j.fct.2013.11.010.

⁴ K. Komosinska-Vassev, P. Olczyk, J. Kaźmierczak, L. Mencner, and K. Olczyk, "Bee pollen: Chemical composition and therapeutic application," 2015, Hindawi Publishing Corporation. doi: 10.1155/2015/297425.

⁵ A. Kostić, D. D. Milinčić, M. B. Barać, M. A. Shariati, Ž. L. Tešić, and M. B. Pešić, "The application of pollen as a functional food and feed ingredient—the present and perspectives," Jan. 01, 2020, MDPI AG. doi: 10.3390/biom10010084.

⁶ M. Oroian, F. Dranca, and F. Ursachi, "Characterization of Romanian Bee Pollen—An Important Nutritional Source," *Foods*, vol. 11, no. 17, Sep. 2022, doi: 10.3390/foods11172633.

⁷ M. G. R. Campos, C. Frigerio, J. Lopes, and S. Bogdanov, "What is the future of Bee-Pollen?," *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, vol. 2, no. 4, pp. 131–144, Oct. 2010, doi: 10.3896/ibra.4.02.4.01.

⁸ C. Gardana, C. Del Bo, M. C. Quicazán, A. R. Corraa, and P. Simonetti, "Nutrients, phytochemicals and botanical origin of commercial bee pollen from different geographical areas," *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 73, pp. 29–38, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.jfca.2018.07.009.

antimikroobseid ja antiproliferatiivseid omadusi, kuid nende bioaktiivsust inimese organismis ei ole veel täielikult välja selgitatud⁹.

Fenoolamiidid on fenoolsete derivaatide rühm, mis tekib taimedes hüdroksükaneelhapete fenüülpropanoidide peamise metaboolse raja kõrvalharuna ning nende konjugeerimisel polüamiinide või arüülmonoamiinidega N-atsetüültransferaasi vahendusel¹⁰. Polüamiidide biosüntees toimub putrestsiinile ühe või kahe aminopropüülrühma lisamise teel, mille tulemusel moodustuvad vastavalt spermidiin ja spermiin⁸. Polüamiinide kovalentne seondumine p-kumaarhappe, kohvhappe ja feruulhappega, mis on paljudes taimeperekondades rohkelt esinevad ühendid, viib hüdroksükaneelhappe amiidide tekkeni⁸.

Keskkonnategurid, nagu põud, soolsus ja temperatuuri kõikumised, mõjutavad oluliselt fenoolamiidide koostist ja sisaldust taimedes¹¹. Stressitingimustes suureneb nende ühendite osalus antioksidantsetes kaitseprotsessides, aidates vähendada oksüdatiivseid kahjustusi, stabiliseerida rakumembraane ning toetada raku veetasakaalu¹¹. Eriti madalate temperatuuride korral on täheldatud fenoolamiidide sisalduse tõusu, mis viitab nende rollile raku kaitsmisel ebasoodsates keskkonnatingimustes¹¹. Erinevad kombinatsioonid hüdroksükaneelhapete ja amiinide vahel annavad tulemuseks fenoolamiidide suure struktuurilise mitmekesisuse erinevatest piirkondades korjatud õietolmu vahel¹². Peamiselt domineerivad õietolmus spermidiini ja spermiini derivaadid, mis on konjugeeritud kohv-, feruul- ja p-kumaarhappega, moodustades struktuurselt varieeruvaid mono- või multiasendatud fenoolamiide¹². Fenoolamiidide struktuuriline iseloomustus on märkimisväärselt keerukas nende suure isomeersuse tõttu. Hüdroksükaneelhapetel esineb *cis-trans*-isomeeria, mis suurendab ühe ja sama molekuli võimalikku struktuurset variatsiooni. Näiteks di-p-kumaroüülspermiidiini puhul on kirjeldatud nelja *cis-trans*-isomeerset vormi: N1 -(Z), N10 -(Z)-; N1 -(Z), N10 -(E)-; N1 -(E), N10 -(Z)- ning N1 -(E), N10 -(E)-di-p-kumaroüül-spermiidiin¹³. Lisaks põhjustavad polüamiinide mitmed reaktiivsed aminorühmad positsioonilist isomeeriat, kuna hüdroksükaneelhapped võivad seonduda erinevatesse kohtadesse, näiteks monoasendatud spermiidiin võib esineda N1 -, N5 - või N 10 -p-kumaroüül-spermiidiinina. Heksoos- ja kofeoüülrühmade lisandumine võib tekitada massilt identseid ja sarnaselt käituvaid fenoolamiide, mis võib raskendada nende üheselt identifitseerimist¹³.

⁹ R. Kacemi and M. G. Campos, "Bee Pollen as a Source of Biopharmaceuticals for Neurodegeneration and Cancer Research: A Scoping Review and Translational Prospects," Dec. 01, 2024, Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). doi: 10.3390/molecules29245893.

¹⁰ E. Gaquerel, J. Gulati, and I. T. Baldwin, "Revealing insect herbivory-induced phenolamide metabolism: From single genes to metabolic network plasticity analysis," 2014, Blackwell Publishing Ltd. doi: 10.1111/tpj.12503.

¹¹ P. Cao, S. Shen, J. Yang, A. R. Fernie, J. Luo, and S. Wang, "Phenolamides: metabolic architects of plant adaptation," Trends Plant Sci., Apr. 2025, doi: 10.1016/j.tplants.2025.10.015.

¹² X. Zhang, M. Yu, X. Zhu, R. Liu, and Q. Lu, "Metabolomics reveals that phenolamides are the main chemical components contributing to the anti-tyrosinase activity of bee pollen," Food Chem., vol. 389, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.foodchem.2022.133071.

¹³ J. Qiao et al., "New Insights into Identification, Distribution, and Health Benefits of Polyamines and Their Derivatives," Mar. 13, 2024, American Chemical Society. doi: 10.1021/acs.jafc.3c08556.