

## Obsah potenciálne toxických prvkov vo včelom mede

DÁVID NEMČÍK & LENKA DEMKOVÁ\*

Katedra ekológie, Fakulta humanitných a prírodných vied, Prešovská univerzita v Prešove, 17. Novembra 1, 081 16 Prešov

### Abstract. The content of potentially toxic elements in the bee-honey

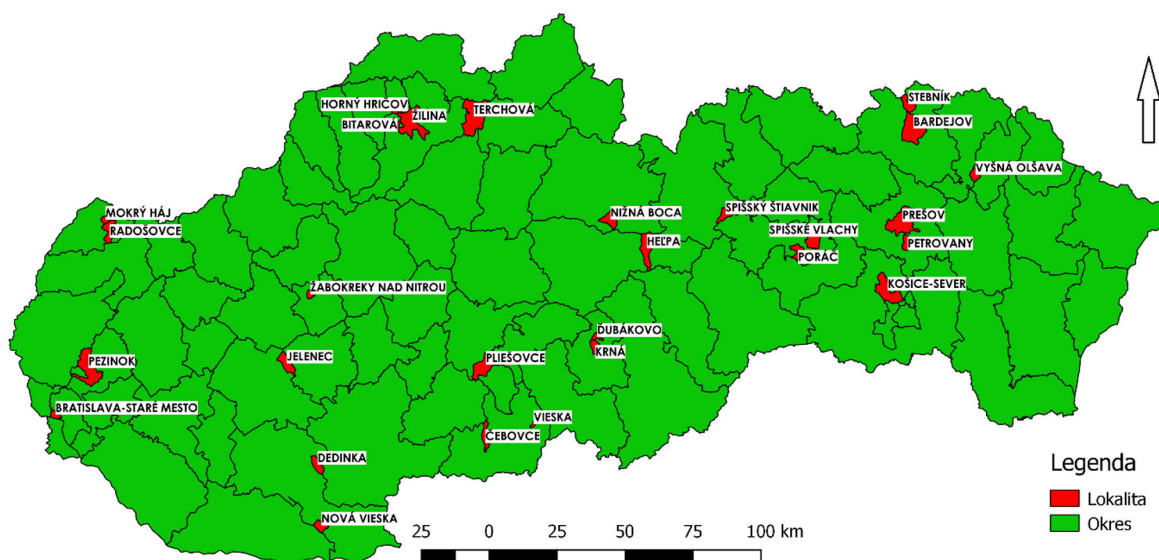
Honeybees are considered the most important and at the same time the most numerous pollinators. Bee products are currently an important part of the cosmetics or healing industries. Rapid anthropogenic changes in the environment of the local honeybee population are declining worldwide. In our study, bee honey was used for environmental quality monitoring in various areas of Slovakia. The number of hives, altitude and the secondary landscape structure were recorded in each locality, which was subsequently evaluated using landscape-ecological coefficients and indices. The content of potentially toxic elements (Cu, Fe, Mn, Ni, Pb and Zn) in the honey samples was evaluated using the ICP - OES (optical emission spectrometry) method. The health risks resulting from the consumption of honey using the hazard quotient (HQ) was also assessed. The results showed that the content of potentially toxic elements in honey is greatly affected by the place, where the hives are stored. At the same time, their potentially toxic element content in the honey samples is related to a number of hives in the area and altitude. With the consumption of honey, a risk was identified in only one locality in Slovakia and was related to exceeded value of lead.

**Keywords:** *Apis mellifera*, landscape structure, hazard quotient, ecological stability, health risk, bioindicator

### Úvod

Včely medonosné (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758) sú dôležité hospodárske zvieratá a to z hľadiska ekonomickej hodnoty ich produkcie ako aj ich kľúčovej úlohy ako opelovačov (Zeiler 1990). Žijú v úzkej symbióze s kvitnúcimi rastlinami a svoj plod živia rastlinnou potravou, zmesou nektáru a peľu. V posledných rokoch počet kolónií včiel významne klesol a tieto poklesy sú sledované v severnej Amerike aj Európe (Hristov et al. 2021). Príčin tohto poklesu je niekoľko. Prvou príčinou je strata krmiva v dôsledku poľnohospodárskej intenzifikácie, druhou je zvyšujúci sa význam škodcov a chorôb, ktoré včely medonosné

ovplyvňujú (Smith et al. 2013). Tretiu príčinu predstavujú škodlivé účinky environmentálnych kontaminantov, akými sú napr. ťažké kovy (Goretti et al. 2020). Včely medonosné sú neustále vystavené pôsobeniu škodlivín vyskytujúcich sa v blízkosti úľov od jari do jesene. Pri hľadaní potravy včely prenášajú späť do úľa kontaminanty obsiahnuté v ich krmive ako aj tie, ktoré sa ukladajú na povrchu kvetov a listov navštívených rastlín. Včely medonosné a ich produkty môžu byť kontaminované nielen nepriamou cestou, teda škodlivinami z poľnohospodárskych postupov (resp. vo všeobecnosti z prostredia), ale aj priamou cestou, teda kontaminantami pochádzajúcimi z včelárskej praxe (Bogdanov et al. 2003).



Obrázok 1. Mapa odberných lokalít v rámci Slovenska.

\* Korešpondenčný autor: L. Demková. Email: lenka.demkova@unipo.sk

Med sa stal dôležitou súčasťou ľudského jedálnička. Má množstvo výživových, liečivých a profylaktických vlastností (Bratu & Georgescu 2005). Aby mal na konzumenta skutočne pozitívny efekt, musí byť bez akýchkoľvek kontaminujúcich látok. Všetky potenciálne toxické prvky (PTE – potentially toxic elements), ktoré sú v mede prítomné a presahujú prípustné množstvá, môžu predstavovať hrozbu pre ľudský organizmus. Hodnotenie obsahu PTE v mede je však zaujímavé nie len z hľadiska kontroly jeho kvality, ale môže byť považované za tzv. environmentálny indikátor (Lazor et al 2012).

Cieľom práce bolo zhodnotiť obsah PTE vo vzorkách medu, určiť vzťah medzi stupňom antropického zataženia (vyjadrený pomocou krajinnno-ekologických ukazovateľov) a obsahom PTE vo vzorkách medu a tiež zdravotné riziká vyplývajúce z konzumácie medu v závislosti od obsahu PTE.

## Materiál a metódy

### Charakteristika výskumných lokalít

Vzorky medu boli získané od včelárov, ktorí majú svoje úle rozmiestnené v rôznych oblastiach Slovenska (Obrázok 1). Pred odberom vzoriek bol všetkým včelárom zaslaný manuál s pokynmi, ako vzorky odobrať a uskladniť. Vzorky boli odoberané v troch po sebe nasledujúcich mesiacoch (máj, jún a júl) v roku 2020. Po odobratí boli vzorky zaslané do laboratória na ďalšie spracovanie.

### Analýza obsahu potenciálne toxických prvkov vo vzorkách medu

Vzorky medu (0,0900g – 0,1200g) boli zriedené 5,00 ml demineralizovanej vody a následne mineralizované. Po procese mineralizácie bol vo vzorkách medu, pomocou prístroja Agilent ICP-OES spectrometer 720 (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA) stanovený celkový obsah potenciálne toxických prvkov (Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn). Rizikový kvocient (HQ – hazard quotient) bol vypočítaný za účelom odhadnúť riziká, ktoré vyplývajú z konzumácie medu. Kvocient bol vypočítaný nasledovne:

$$HQ = \frac{ADD}{RfD} \quad (1)$$

$$ADD = \frac{C \times IR}{BW} \quad (2)$$

kde,  $ADD$  je priemerný denný príjem prvkov ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{deň}^{-1}$ ),  $RfD$  je denná referenčná dávka pre príjem konkrétneho prvku ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{deň}^{-1}$ ) navrhnutá US EPA (1992, 1999) alebo odvodená z dočasného tolerovateľného týždenného príjmu ( $PTWI$ ) stanoveného WHO.  $C$  je stredná koncentrácia ťažkého kovu v mede

( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ).  $IR$  je miera spotreby ( $(\text{kg na osobu}^{-1}) \text{ deň}^{-1}$ ). Podľa štatistického úradu SR bola v roku 2020 spotreba medu na Slovensku 1,2 kg na osobu na rok (Sitárová 2021).  $BW$  je priemerná telesná hmotnosť (70 kg u dospelého človeka).

### Stanovenie vybraných krajinnno-ekologických koeficientov a indexov

Na každej lokalite, kde bol umiestnený úl, bola hodnotená aj druhotná krajinná štruktúra, z ktorej boli odvodené vybrané krajinnno-ekologické koeficienty a indexy. Pre výskumné účely bola letová vzdialenosť včiel stanovená na 2 km od úľa. V rámci tohto okruhu bol určený percentuálny podiel tried prvkov štruktúry CLC (2018). CORINE Land Cover (CLC 2018) koordinuje Európska environmentálna agentúra (EEA) v rámci program EÚ Copernicus a realizujú ho národné tímy pod vedením a kontrolou kvality EEA. Na základe týchto vektorových údajov bol orezaný 2 km polomer na každej lokalite a pomocou geografického informačného systému QGIS sme spočítali podiel každej triedy v zameranej oblasti. Polomer 2 km bol vybraný, pretože sa odhaduje, že včely hľadajú hlavne peľ (približne 90 % ich návštevy) v okruhu 1,6 km od svojich úľov (Couvillon et al. 2014; Danner et al. 2014). Na základe informácií o rozlohe jednotlivých prvkov krajinnnej štruktúry boli vyhodnotené vybrané krajinnno-ekologické indexy a koeficienty. *Koeficient ekologickej stability* (Miklós 1986) bol vypočítaný nasledovne:

$$ES = \frac{\sum_1^n Pa \cdot Kpn}{P} \quad (3)$$

$Pa$  je rozloha (ha) jednotlivých prvkov krajinnnej štruktúry (les, orná pôda atď.),  $Kpn$  je koeficient ekologickej významnosti formy využitia krajiny a  $P$  je celková výmera územia. Hodnoty koeficientu  $Kpn$  boli pridelené pre jednotlivé skupiny prvkov krajinnnej štruktúry nasledovne: 0,14 – pole; 0,62 – lúky; 0,68 – pasienky; 0,5 – záhrady; 0,3 – ovocné sady; 1 – lesy; 0,79 – vodné plochy; 0 – zastavané plochy a 0,14 – ostatné plochy. Výsledky koeficientu boli hodnotené podľa Petroviča (2005), nasledovne:  $ES < 0,2$  výrazne nestabilizovaná krajina; 0,2 – 0,4 nestabilizovaná krajina; 0,4 – 0,6 čiastočne stabilizovaná krajina; 0,6 – 0,8 stabilizovaná krajina; 0,8 – 1 výrazne stabilizovaná krajina (Solár 2012). *Koeficient miery antropického vplyvu* (Kupková 2001) bol vypočítaný nasledovne:

$$KAZ = \frac{V}{N} \quad (4)$$

$V$  reprezentuje plochy s vyššou intenzitou využívania (orná pôda, zastavaná plocha, ostatné plochy) a  $N$  plochy s nižšou intenzitou využívania (trvalé trávne porasty, les, vodné plochy). Koeficient nadobúda hodnoty od 0 vyššie. Horná hranica tohto indexu nie je určená.

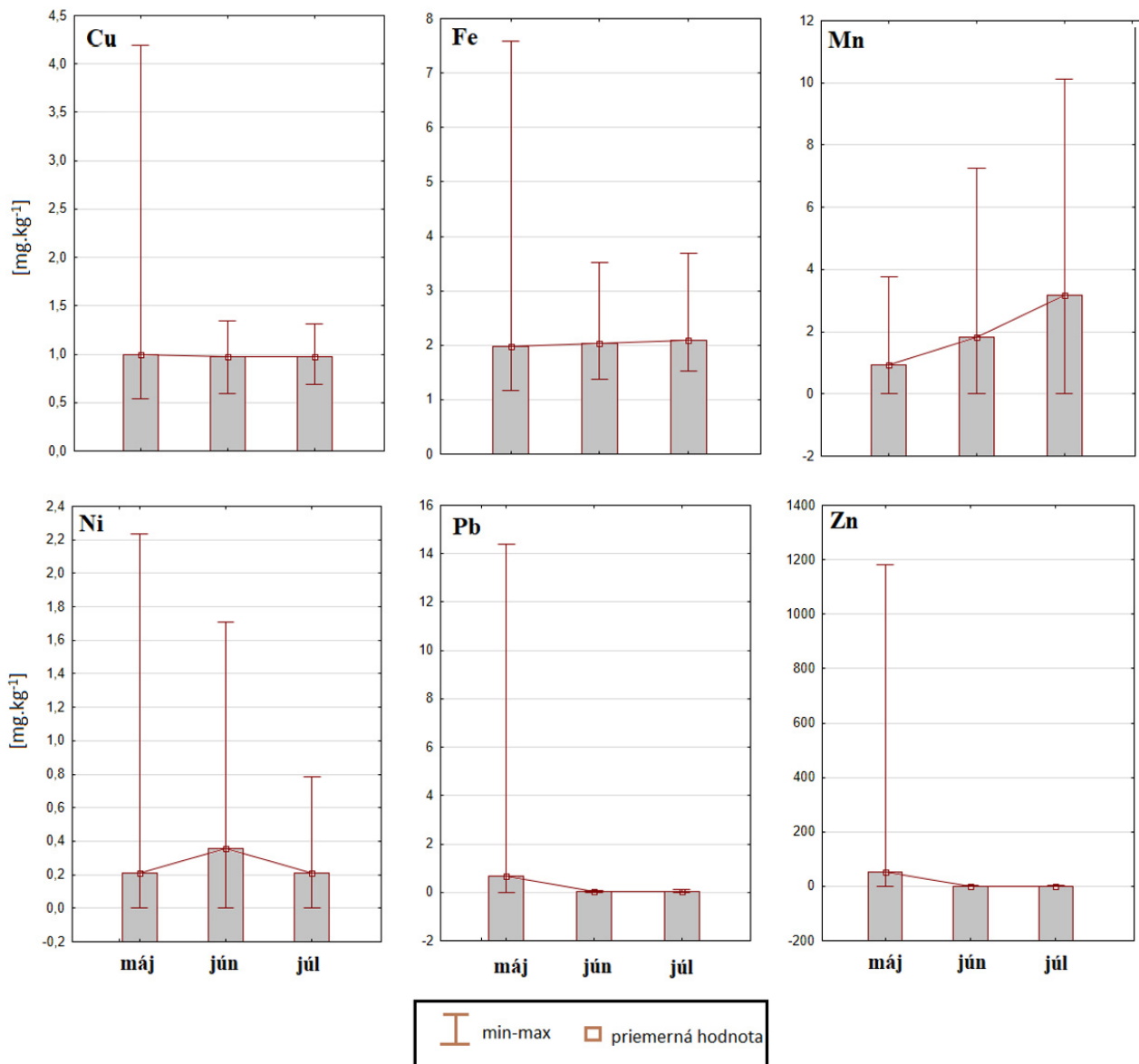
Tretím hodnoteným koeficientom, bol *Koeficient pôvodnosti kultúrnej krajiny*, ktorý je definovaný nasledovným vzorcom:

$$PKK = \frac{(les+TTP)}{orná\ pôda} \quad (5)$$

K pozitívnym prvkom patrí les a trvalé trávne porasty (Žigrai 2001), pričom k negatívnym prvkom orná pôda. Čím je hodnota koeficientu vyššia, resp. vyššia ako 1, tým je hodnotená krajina stabilnejšia.

*Štatistické vyhodnotenie získaných výsledkov a tvorba mapových výstupov*

Všetky štatistické operácie boli vykonané v programe STATISTICA 12 (StatSoft 2004). Všetky dáta boli pred analýzou log+1 transformované. Spearmanov korelačný koeficient bol použitý za účelom zistenia závislosti medzi jednotlivými PTE nameranými v mede a tiež medzi obsahom PTE a vybranými vlastnosťami prostredia (nadmorská výška, krajinno-ekologické koeficienty a indexy, počet včelstiev). Neparametrický Kruskal-Wallisov test bol použitý za účelom stanovenia štatisticky významných rozdielov v obsahu PTE vo vzorkách medu v závislosti od mesiaca, v ktorom boli vzorky odobrané. Mapy boli spracované v Geografickom informačnom systéme použitím softvéru QGIS (verzia 2.18).



Obrázok 2. Obsah potenciálne toxických prvkov vo vzorkách medu v závislosti od mesiaca.

## Výsledky a diskusia

### Obsah potenciálne toxických prvkov stanovených vo vzorkách medu

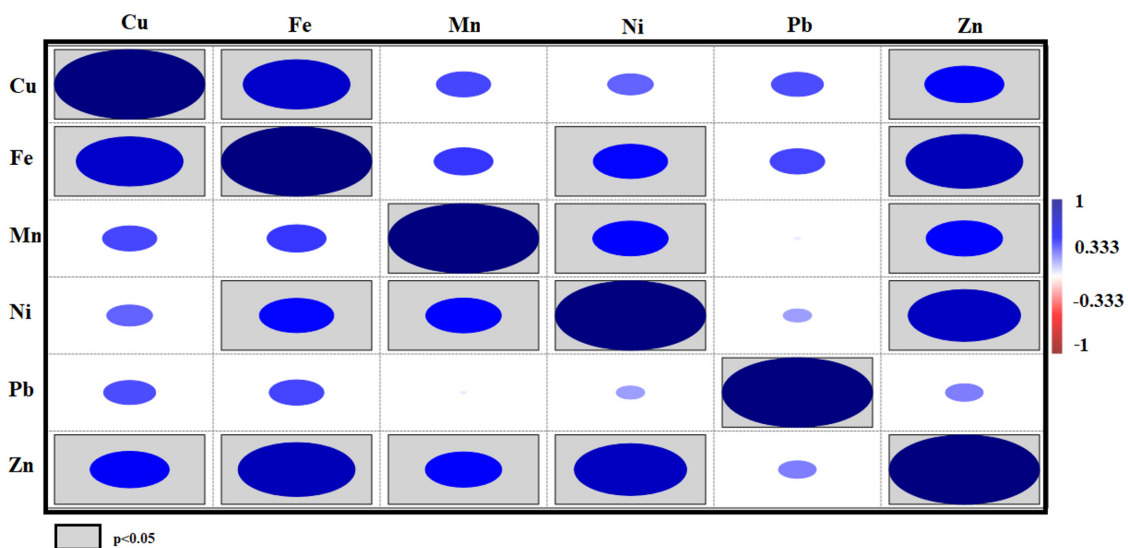
Koncentrácie PTE stanovených vo vzorkách včelieho medu, vyjadrené popisnou štatistikou sú uvedené v Tabuľke 1. Hodnotené prvky Cu, Fe, Mn, Ni, Pb a Zn stanovené vo vzorkách medu dosahovali priemerné hodnoty (v mg.kg<sup>-1</sup>) 1,06; 2,18; 2,21; 0,43; 0,68 a 52,34 v tomto poradí. Pri porovnaní výsledkov, ktoré uvádza v publikácii Lazor et al (2012), bol obsah olova (Pb) v meraných vzorkách medu v priemernej hodnote 0,1385 mg.kg<sup>-1</sup>. Vzorky získané na lokalite Prievidza v roku 2006 dosahovali hodnotu 0,1535 mg.kg<sup>-1</sup> v roku 2007 hodnotu 0,0835 mg.kg<sup>-1</sup>. V lokalite Šaľa priemerné namerané hodnoty Pb v roku 2006 dosahovali hodnotu 0,1674 mg.kg<sup>-1</sup> v roku 2007 - 0,1495 mg.kg<sup>-1</sup> a 0,1709 mg.kg<sup>-1</sup> v roku 2008. V porovnaní s nami nameranými hodnotami Pb za mesiace máj až júl boli vo vzorkách zistené vyššie koncentrácie.

Tabuľka 1. Popisná štatistika vyjadrujúca celkový potenciálne toxických prvkov [mg.kg<sup>-1</sup>] v mede.

Prvok	min – max	Priemer ± smerodajná odchýlka
Cu	0,67 – 4,18	1,06 ± 0,68
Fe	1,35 – 7,58	2,18 ± 1,20
Mn	0,00 – 5,43	2,21 ± 1,63
Ni	0,00 – 2,23	0,43 ± 0,55
Pb	0,00 – 14,4	0,68 ± 2,99
Zn	0,40 – 1180	52,34 ± 240

Dôvodom týchto vysokých hodnôt je vzorka získaná z lokality Stebník – Hutisko, kde bola zistená extrémne vysoká hodnota Pb (14,04 mg.kg<sup>-1</sup>). Bez tejto vzorky je priemerná koncentrácia Pb v mede 0,03 mg.kg<sup>-1</sup>. V práci Pavlíkovej (2013), ktorá stanovuje koncentrácie vybraných prvkov v mede sa hodnoty prvkov viacerých z nich pohybovali v rovnakých hodnotách ako nami získané výsledky. V nami hodnotených vzorkách však boli priemerne vyššie koncentrácie Ni, Zn a Pb, avšak nižšie priemerné koncentrácie Fe. Proces tvorby medu u včiel je zložitý mechanizmus a je veľmi pravdepodobné, že prechádza istým procesom čistenia (Leita et al. 1996). Fakhimzadeh & Lodenius (2000) preto predpokladajú, že pri tvorbe medu sa časť PTE usádza priamo v tele včiel.

Vzorky medu boli odoberané v troch po sebe nasledujúcich mesiacoch máj-jún-júl. Podľa výsledkov uvedených na Obrázku 2 je zrejme, že obsah Mn a Fe vo vzorkách medu počas hodnoteného obdobia mierne stúpal. Obsah Ni dosahoval maximum v júni, obsah Pb a Zn v máji. Výsledky neparametrického Kruskal-Wallisovho testu potvrdili, že obsah PTE sa vo vzorkách medu v závislosti od mesiaca nemenil. Výnimkou bol len prvok Mn, ktorého hodnoty boli signifikantne vyššie v mesiaci júl v porovnaní s mesiacom máj. Costa et al. (2018) sa zaoberali vzťahom medzi obsahom PTE v telách včiel a jeho obsahom v atmosfére. Podľa výsledkov je zrejme, že vzťah medzi týmito premennými je veľmi silný. Pokiaľ sa obsah PTE v atmosfére mení (v závislosti od klimatických činiteľov, intenzity dopravy, intenzity priemyselnej výroby), prejaví sa to aj na ich obsahu v telách včiel a v konečnom dôsledku aj na jeho obsahu vo včelích produktoch. Výsledky tejto a mnohých ďalších štúdií potvrdili, že využitie včiel ako „nízko nákladových“ monitorovacích mechanizmov má veľký význam pri hodnotení kvality ovzdušia (Khalifa & Aly 2020).



Obrázok 3. Korelačné závislosti (Spearmanov korelačný koeficient) medzi obsahom potenciálne toxických prvkov nameraných vo vzorkách medu.

### Korelačné závislosti medzi obsahom potenciálne toxických prvkov vo vzorkách medu

Spearmanovým korelačným koeficientom boli vyjadrené závislosti medzi jednotlivými PTE stanovenými vo vzorkách medu (Obrázok 3). Z doterajších štúdií zameraných na hodnotenie obsahu PTE v prostredí vyplýva, že ak prvky spolu signifikantne pozitívne koreľujú, je vysoká pravdepodobnosť, že pochádzajú z rovnakého zdroja (Li et al. 2008). Z našich výsledkov je zrejmé, že v prípade medu všetky hodnotené prvky spolu koreľujú pozitívne, pričom medzi prvkami Cu-Fe-Zn bola zistená signifikantná pozitívna závislosť. Zároveň, signifikantná pozitívna závislosť bola zistená medzi prvkami Mn-Ni-Zn.

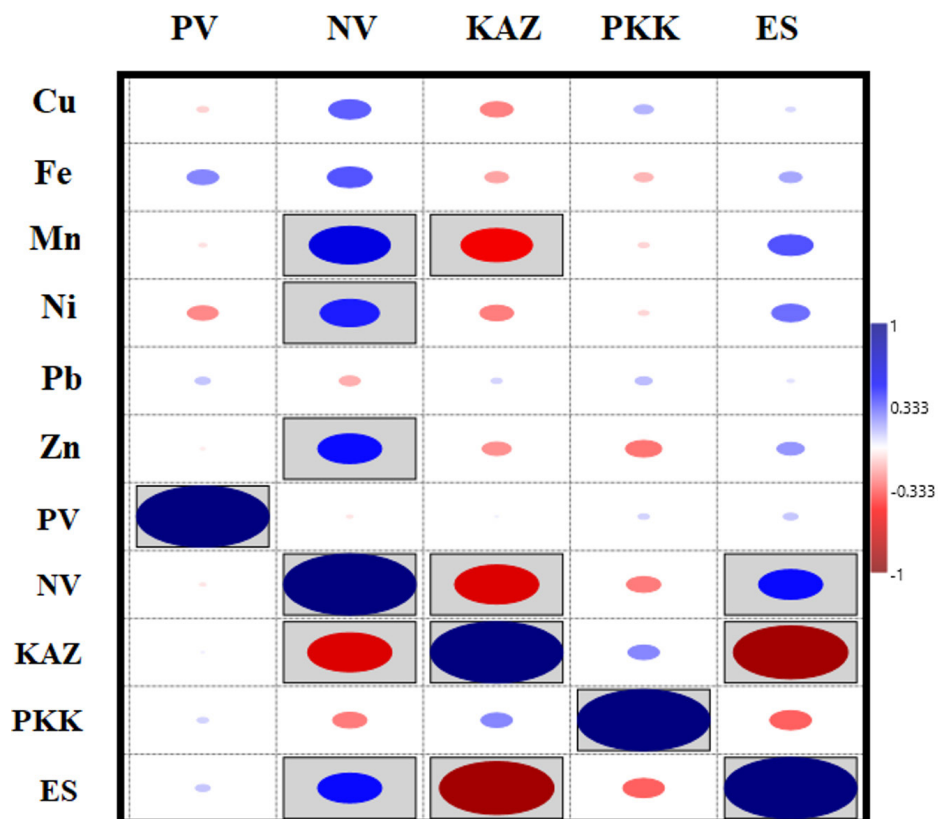
### Korelačné závislosti medzi obsahom potenciálne toxických prvkov vo vzorkách medu a vybranými krajinno-ekologickými koeficientmi.

Korelačné závislosti medzi obsahom PTE stanovených v mede a vybranými krajinno-ekologickými ukazovateľmi sú uvedené na Obrázku 4. Z výsledkov vyplýva, že obsah PTE v mede pozitívne koreľoval s nadmorskou výškou. So stúpajúcou nadmorskou výškou klesá aj počet včelstiev, ktoré sa vyskytujú na konkrétnom území. Predpokladáme, že na daných lokalitách (s menším počtom včelstiev) sú včely nútené zberať peľ z väčšieho územia (keďže si

vzájomne nekonkurujú), teda zachytávajú aj väčšie množstvo znečistenia. To vysvetľuje aj negatívne korelácie medzi obsahom PTE a počtom včelstiev (viac včelstiev – väčšia konkurencia a teda aj nižšia schopnosť „zachytiť“ kontaminanty).

### Zdravotné riziká vyplývajúce z konzumácie medu

Rizikový kvocient (HQ) sa bežne využíva na zistenie rizík vyplývajúcich z konzumácie rozličných potravín, pretože súvisí s koncentráciou prvku v danej potravine a tiež s jeho toxicitou, kvalitou a kvantitou jedla a telesnou hmotnosťou človeka (Singh et al. 2020). V Tabuľke 2 sú uvedené hodnoty rizikového kvocientu pre hodnotené prvky v mede. Vzorky medu, u ktorých HQ (pre konkrétny prvok) dosahoval hodnotu nižšiu ako 1 nie sú považované za rizikové. Naopak, ak HQ presiahne hodnotu 1, konzumácia produktu môže pre konzumenta predstavovať zdravotné riziko (Alp et al. 2019). Hodnoty HQ pre jednotlivé prvky stanovené vo vzorkách medu sú uvedené v Tabuľke 2. Z uvedených výsledkov vyplýva, že hodnota 1 bola prekročená len v prípade prvku Pb. K prekročeniu došlo iba v jednej lokalite – Hutisko-Stebník. Hodnota Pb je na tejto lokalite prekročená pravdepodobne z dôvodu používania produktov na ošetrovanie včiel, ktoré sú charakteristické zvýšeným obsahom tohto prvku.



Obrázok 4. Korelačné závislosti (Spearmanov korelačný koeficient) medzi obsahom potenciálne toxických prvkov vo vzorkách medu a vybranými vlastnosťami krajiny. PV - počet včelstiev, NV - nadmorská výška, KAZ - koeficient antropogénneho zaťaženia, PKK - pôvodnosť kultúrnej krajiny, ES - ekologická stabilita.

Tabuľka 2. Výsledky rizikového kvocientu (HQ) stanovené pre vybrané potenciálne toxické prvky vo vzorkách medu [mg.kg<sup>-1</sup>].

	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
min	0,0001	0,0003	0	0	0	0,0001
max	0,001	0,001	0,002	0,119	1,157	0,219

## Záver

Na základe získaných výsledkov môžeme konštatovať, že pre potreby biomonitoringu nie je med najvhodnejším monitorovacím prostriedkom, pretože počas spracovania medu dochádza k ukladaniu látok v tele včely a výsledný med je čiastočne od potenciálne toxických látok očistený. Porovnaním obsahu PTE v mede v závislosti od mesiaca odberu bolo zistené, že sezóna nemá na ich obsah významný vplyv. Korelačné závislosti medzi obsahom PTE vo vzorkách medu a vybranými krajinno-ekologickými koeficientami potvrdili, že so zväčšujúcim sa počtom včelstiev klesá obsah PTE v mede, rovnako, ich obsah klesá so stúpajúcou nadmorskou výškou. Predpokladáme, že čím je väčší počet včelstiev na danom území, tým vyššia je konkurencia a teda jednotlivé včely pokrývajú pri zbere menšie územie. To sa môže odraziť nižšou koncentráciou PTE v telách včiel a následne aj vo včelích produktoch.

## Podakovanie

Práca vznikla za finančnej podpory projektu VEGA 1/0213/22. Naše poďakovanie patrí aj včelárom, ktorí nám poskytli vzorky medu, ako aj kolegom, ktorí akokoľvek prispeli k vzniku tejto práce.

## Literatúra

- Alp H, Ince M, Ince OK Onal A. 2019. Evaluation the Weekly Intake of Some Wild Edible Indigenous Mushrooms Collected in Different Regions in Tunceli, Turkey. *Biological Trace Element Research* 195: 239–249.
- Bogdanov S, Imdorf A, Charriere J, Fluri P, Kilchenmann V. 2003. *The contaminants of the bee colony*. Bern: Swiss Bee Research Centre.
- Bratu I, Georgescu C. 2005. Chemical contamination of bee honey – identifying sensor of the environment pollution. *Journal of Central European Agriculture* 6(1): 95–98.
- CLC. 2018. Corine Land Cover 2018 (vector), version 20, Jun. 2019. [Accessed 3 March 2022]. Available from: <https://land.copernicus.eu/pan-european/corine-land-cover>
- Costa A, Veca M, Barberis M, Tosti A, Notaro G, Nava S, Lazzari M, Agazzi A, Tangorra FM, 2018. Heavy metals on honeybees indicate their concentration in the atmosphere. *Italian Journal of Animal Science* 20(1): 850–858.
- Couvillon MJR, Schürch R, Ratnieks FIW. 2014. Dancing bees communicate a foraging preference for rural lands in high-level Agri-Environment Schemes. *Current Biology* 24: 1212–1215.
- Danner N, Härtel S, Steffan-Dewenter I. 2014. Maize pollen foraging by honeybees in relation to crop area and landscape context. *Basic and Applied Ecology* 15: 677–684.
- Fakhimzadeh K, Lodenius M. 2000. Heavy metals in finnish honey, pollen and honeybees. *Apiacta* 35(2): 85–95.
- Goretti E, Pallottini M, Rossi P, La Porta G, Gardi T, Cenci Goga BT, Elia AC, Galletti M, Moroni B, Petroselli C, Selvaggi R, Cappelletti D. 2020. Heavy metal bioaccumulation in honey bee matrix, an indicator to assess the contamination level in terrestrial environments. *Environmental Pollution* 256: 113388.
- Hristov P, Shumkova R, Paloa N, Neov, B. 2021. Factors associated with honey bee colony losses: a mini review. *Veterinary Sciences* 7(4): 166.
- Khalifa KMAAMH, Aly GF. 2020. Heavy metal accumulation and the possible correlation with acetylcholinesterase level in honeybees from polluted areas of Alexandria, Egypt. *African Entomology* 28(2): 385–393.
- Kupková L. 2001. Data o krajine včera a dnes. *Geoinfo* 1: 16–19.
- Lazor P, Tomáš J, Tóth T, Tóth J, Čéryová S. 2012. Monitoring of air pollution and atmospheric deposition of Heavy metals by analysis of honey. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 1(4): 522–533.
- Leita L, Muhlbachova G, Cesco S, Barbattini R, Mondini C. 1996. Investigation of the use of honeybee and honeybee products to assess heavy metals contamination. *Environmental Monitoring and Assessment* 42: 1–9.
- Li WX, Zhang XX, Wu B, Sun S, Chen Y, Pan W, Zhao D, Cheng SA. 2008. Comparative Analysis of Environmental Quality Assessment Methods for Heavy Metal-Contaminated Soils. *Pedosphere* 18: 344–352.
- Miklós L. 1986. Stabilita krajiny v ekologickom generáli SSR. *Životné prostredie* 20(2): 87–93.
- Pavliková D. 2013. *Stanovení rizikových prvků v medu*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- Petrovič F. 2005. *Vývoj krajiny v oblasti štálového osídlenia Pohronskeho Inovca a Tribeča*. Nitra: Ústav krajinnej ekológie SAV Bratislava, pobočka Nitra.
- Singh R, Kaur N, Shri R, Singh AP, Dhingra GS. 2020. Proximate composition and element contents of selected species of Ganoderma with reference to dietary intakes. *Environmental monitoring and assessment* 192: 270.
- Sitárová T. 2021. *Spotreba potravín v SR v roku 2020*. Bratislava: Štatistický úrad Slovenskej republiky.
- Smith KM, Loh EH, Rostal MK, Zambrana-Torrel CM, Mendiola L, Daszak D. 2013. Pathogens, Pests, and Economics: Drivers of Honey Bee Colony Declines and Losses. *EcoHealth* 10: 434–445.
- StatSoft Inc. 2004. STATISTICA (Data Analysis Software System), Version 7.
- US EPA. 1992. *Guidelines for Exposure Assessment*, Environmental Protection Agency. Washington DC: Risk Assessment Forum.
- US EPA. 1999. *Guidance for Performing Aggregate Exposure and Risk Assessments*, Environmental Protection Agency. Washington DC: Office of Pesticide Programs.
- Zeiler C. 1990. *300 rád pre včelárov*. Bratislava: Nakladateľstvo Príroda.
- Žigrai, F. 2001. Integrovaný prístup k výskumu kultúrnej krajiny (vybrané teoreticko-metodologické aspekty). In: Jančura P, ed. *Zborník referátov zo 6. celoslovenskej konferencie Krajina, človek, kultúra*. Banská Bystrica: Slovenská agentúra životného prostredia, 16–22.